Band I Heft 3 Juni 1912

Zeitschrift für Gärungsphysiologie

allgemeine, landwirtschaftliche und technische Mykologie

unter Mitwirkung von

V. Babes-Bukarest, **Chr. Barthel**-Stockholm, **A. Bau**-Bremen, **M. W. Beijerinck**-Delft, **W. Benecke**-Berlin, **Ph. Biourge**-Löwen, **A. J. Brown**-Birmingham, **M. Bücheler**-Weihenstephan, **R. Burri**-Liebefeld bei Bern, **A. Calmette**-Lille, **R. Chodat**-Genf, **A. Cluss**-Wien, **F. Czapek**-Prag, **M. Düggeli**-Zürich, **J. Effront**-Brüssel, **H. v. Euler**-Stockholm, **A. Fischer**-Basel, **C. Gorini**-Mailand, **R. Graßberger**-Wien, **A. Harden**-London, **H. A. Harding**-New York, **F. C. Harrison**-Ste. Anne de Bellevue, Canada, **F. v. Höhnel**-Wien, **J. Chr. Holm**-Kopenhagen, **F. Hueppe**-Prag, **G. v. Istvànffi**-Budapest, **Orla Jensen**-Kopenhagen, **Alfred Jörgensen**-Kopenhagen, **V. v. Klecki**-Krakau, **M. Klimmer**-Dresden, **A. Koch**-Göttingen, **R. Kolkwitz**-Steglitz-Berlin, **F. Krasser**-Prag, **W. Kruse**-Bonn, **H. van Laer**-Gent, **F. Löhnis**-Leipzig, **Ch. E. Marshall**-East Lansing, Michigan, **R. Meißner**-Weinsberg, **W. Migula**-Eisenach, **H. Molisch**-Wien, **C. Neuberg**-Berlin, **W. Palladin**-Petersburg, **P. Petit**-Nancy, **P. Pichi**-Conegliano, **E. Prior**-Wien, **O. Richter**-Wien, **K. Saito**-Tokio, **A. Schattenfroh**-Wien, **W. Seifert**-Klosterneuburg, **J. Stoklasa**-Prag, Freiherr **v. Tubeuf**-München, **W. Winkler**-Wien, **J. Wortmann**-Geisenheim a. Rhein, **H. Zikes**-Wien

herausgegeben von

Professor Dr. Alexander Kossowicz-Wien

BERLIN
Verlag von Gebrüder Borntraeger
W 35 Schöneberger Ufer 12a
1912

Inhalt des 3. Heftes

Die „Zeitschrift für Gärungsphysiologie" erscheint in zwanglosen Heften von je ca. 4 Bogen. Je 24 Druckbogen bilden einen Band zum Preise von 20 Mark. Jährlich gelangen 1½ bis 2 Bände zur Ausgabe.

Alle die **Redaktion** betreffenden Zuschriften und Sendungen (Manuskripte, Separatabdrücke, Rezensionsexemplare) sind an den Herausgeber **Professor Dr. Alexander Kossowicz, Wien II, Josef-Gall-Gasse 2,** zu richten, alle geschäftlichen Mitteilungen an die **Verlagsbuchhandlung Gebrüder Borntraeger in Berlin W 35, Schöneberger Ufer 12a.**

Originalabhandlungen können auch in **englischer, französischer und italienischer Sprache** zur Veröffentlichung gelangen.

Bereits in anderen Zeitschriften veröffentlichte Originalabhandlungen werden nicht aufgenommen.

Über die primäre Umwandlung der Hexosen bei der alkoholischen Gärung.

Von **H. Euler** und **Th. Berggren.**

Aus dem biochemischen Laboratorium der Hochschule Stockholm.

Läßt man Glukose durch lebende Hefe vergären und berechnet aus der bei der Vergärung eintretenden prozentischen Drehungsabnahme Δ die Menge des verschwundenen Zuckers, so findet man einen Wert, welcher größer ist als der Wert C, welcher sich aus der entwickelten Kohlensäure berechnet[1]. Bei der im hiesigen Laboratorium vielfach studierten Hefe H der hiesigen St. Eriksbrauerei beträgt die Differenz zwischen den beiden Größen Δ und C 5—15 %.

Bei der zellfreien Gärung durch Hefepreßsaft ist ein mit obigem verwandter Unterschied, nämlich zwischen der Änderung des Reduktionsvermögens der Zuckerlösung und der entwickelten Kohlensäure schon vor längerer Zeit mehrfach beobachtet worden (Macfadyen, Harris, Morris und S. Rowland, Harden und Young, Buchner und Meisenheimer); sie wurde so erklärt, daß bei der Gärung ein höheres Kohlehydrat als Reversionsprodukt entsteht.

Auch bei den Versuchen mit lebender Hefe könnte man annehmen, daß ein höheres Kohlehydrat innerhalb der Hefezellen gebildet und aufgespeichert wird. Würde aber die Differenz Δ — C der Hauptsache nach durch eine solche Speicherung veranlaßt, so sollte man eine ganz andere Beziehung zwischen Δ — C und Δ erwarten, als nach den Versuchen von Euler und Johansson besteht.

Im wesentlichen dürfte die erwähnte Differenz durch die primäre Umwandlung des Zuckers in ein anderes Kohlehydrat veranlaßt sein.

Nun ist zunächst hervorzuheben, daß die Drehungsabnahme nur dann ein Maß für die Menge des verschwundenen Zuckers ist, wenn

[1] Euler und Johansson, Zeitschr. f. physiol. Chem. **76**, 347; 1912.

das gebildete Zwischenprodukt selbst nicht dreht. Würde das gebildete Zwischenprodukt linksdrehend sein, so würde die verschwundene Zuckermenge zu groß gefunden werden, im entgegengesetzten Falle, also bei Rechtsdrehung des primären Umwandlungsproduktes, zu klein.

Nun ist über die Drehung dieses Umwandlungsproduktes noch nichts bekannt.

Nimmt man an, daß dieses Umwandlungsprodukt diejenige Molekülart ist, welche durch Vermittlung der Phosphatese mit Phosphorsäure verestert werden kann, so ergibt sich folgende Überschlagsrechnung:

Bei den Versuchen von Euler und Ohlsen[1]) befanden sich in 10 ccm der Mischungen, in welchen die Phosphorsäureestersynthese stattfand, im Mittel 0,00044 g Mol. PO_4, entsprechend 0,00022 g Mol. $Mg_2P_2O_7$.

In 10 ccm dieser Mischung befanden sich ferner 0,72 g = 0,004 g Mol. Glukose. Nun treten 2 Mol. PO_4 mit 6 C-Atomen = 1 Mol. Hexose zusammen.

Damit also die Gesamtmenge des anwesenden Phosphates verestert werden kann, sind nur 0,00022 g Mol. umgewandelte Hexose erforderlich, oder, mit anderen Worten, es brauchen von den anwesenden 0,004 g Molekülen Hexose nur etwa 5 % umgewandelt sein, damit die Veresterung vollständig ist. Dieses Ergebnis stimmt der Größenordnung nach mit den Werten überein, welche Euler und Johansson[2]) vor kurzem für die gleiche Hefe festgestellt haben.

Hält man also an der Auffassung fest, daß ein besonderes Enzym die Umwandlung der Glukose in dasjenige Zwischenprodukt bewirkt, welches dann der Veresterung unterliegt, so ergibt sich als nächste Aufgabe, zu untersuchen, ob dieses Enzym von den übrigen an der Gärung beteiligten Enzymen getrennt werden kann. In direktem Zusammenhang mit diesem Problem steht ferner die Frage: Welches der an der Gärung beteiligten Enzyme macht die Mitwirkung des Co-Enzymes erforderlich?

Wir beschreiben zunächst Versuche, welche die letztere Frage betreffen.

I.

Nachdem es sich gezeigt hat, daß unsere lebende Hefe durch den Extrakt von Trockenhefe beschleunigt wird, wurde untersucht, wie die eingangs erwähnte Differenz $\varDelta - C$ beeinflußt wird, wenn zu gärender lebender Hefe Hefenextrakt ohne eigene Gärkraft gesetzt wird.

---

[1]) Euler und Ohlsen, Zeitschr. f. physiol. Chem. **76**, 468; 1912.

[2]) Euler und Johansson, Zeitschr. f. physiol. Chem. **76**, 347; 1912.

Versuchsanordnung.

Als Glukose wurde durchweg Kahlbaums reinstes Präparat „Glukose Kahlbaum“ verwandt. Die frische Hefe war die gleiche Rasse, welche auch in den Versuchen von Euler und Johansson zur Anwendung gekommen war, nämlich die Hefe H der hiesigen St. Eriksbrauerei.

Der Hefenextrakt wurde hergestellt durch mehrstündige Extraktion der bei Zimmertemperatur getrockneten Hefe mit dem 5fachen Gewicht Wasser bei 30° C. Die Münchnerhefe war eine von Schroder in München bezogene Trockenhefe. Der Extrakt wurde durch Abfiltrieren der Trockenhefe gewonnen; er wurde auf 80—90° C erhitzt, um jede Gärwirkung desselben zu zerstören.

Die entwickelte Kohlensäure wurde durch Wägung bestimmt. Jeder Versuch verlief in folgender Weise: Die zu vergärende Lösung von Glukose und eventuellen Zusätzen befand sich in 50 ccm fassenden Erlenmeyerkolben, welche mit Gummistopfen und einem Meißlventil versehen waren. Der Versuch begann mit der Einführung von je 1 g frischer Hefe, deren Gehalt an Trockenhefe durch Trocknen bei 90° C bestimmt wurde (siehe Spalte 2 der folgenden Tabellen), in die Lösungen und Wägung der Kolben. Die während des Versuchs in demselben herrschende Temperatur ist in Spalte 1 der folgenden Tabellen angegeben. Nach einer gewissen Zeit wurde ein Kolben evakuiert, indem das Meißlventil an die Wasserpumpe angeschlossen wurde; die hierdurch entfernte Kohlensäure wurde wieder durch Luft ersetzt. Nach der unmittelbar hierauf erfolgenden Wägung wurde der Kolbeninhalt filtriert, was höchstens 2 Minuten in Anspruch nahm, und die klare Lösung wurde polarisiert.

Die Drehung der angewandten Glukoselösung wurde in jeder Versuchsreihe gemessen, und der dabei erhaltene Wert wurde zur Berechnung der prozentischen Drehungsänderung benutzt. Bei der Berechnung der prozentischen Kohlensäureentwicklung wurde der theoretische Wert in Rechnung gesetzt, wonach aus 180 g Glukose 88 g CO_2 entstehen.

Bei den Parallelversuchen mit und ohne Extrakt wurden die Messungen nach ungefähr gleichen Versuchszeiten ausgeführt.

Zunächst zeigt ein Vergleich der in den Parallelversuchen erhaltenen Werte für Δ und C, daß durch den Zusatz des Hefenextraktes zu der Glukoselösung eine bedeutende Beschleunigung der Gärung eintritt, und zwar um etwa 100%.

Tabelle 1. Hefe H.

1	2	20 ccm 10 prozentige Glukoselösung, 5 ccm Extrakt von Stockholmer Trockenhefe, 1 g frische Hefe H.						20 ccm 10 prozentige Glukoselösung, 2 ccm H_2O, 1 g frische Hefe H.					
Temp. °C	% Trocken-substanz	Zeit in Min.	Entwickelte CO_2 g	Entwickelte CO_2 %	Drehungsänderung in Graden	Drehungsänderung %	Diff. Δ—C	Zeit in Min.	Entwickelte CO_2 g	Entwickelte CO_2 %	Drehungsänderung in Graden	Drehungsänderung %	Diff. Δ—C
18	37	80	0,0606	6,2	4,42 — 3,75 = 0,67	15,2	9,0	70	0,0406	4,1	4,42 — 4,00 = 0,42	9,5	5,4
18	37	215	0,2318	23,7	4,42 — 2,71 = 1,67	37,8	14,1	205	0,1310	13,4	4,42 — 3,42 = 1,00	22,6	9,2
18	37	290	0,3635	37,1	4,42 — 2,20 = 2,22	50,2	13,1	285	0,2056	21,0	4,42 — 3,05 = 1,37	30,9	9,9
15	35	100	0,0536	5,5	4,42 — 3,72 = 0,70	15,9	10,4	80	0,0206	2,1	4,42 — 4,13 = 0,29	6,6	4,5
15	35	202	0,1329	13,6	4,42 — 3,34 = 1,08	24,4	10,8	205	0,0808	8,3	4,42 — 3,63 = 0,79	17,9	9,6
15	35	263	0,2134	21,7	4,42 — 3,04 = 1,38	31,2	9,5	255	0,0980	10,0	4,42 — 3,50 = 0,92	20,8	9,8
15	35	388	0,3115	31,8	4,42 — 2,40 = 2,02	45,7	13,9	390	0,1814	18,5	4,42 — 3,12 = 1,30	29,4	10,9
17	37	60	0,0375	3,9	4,40 — 3,90 = 0,50	11,1	7,2	60	0,0250	2,6	4,40 — 4,00 = 0,40	9,1	6,5
17	37	190	0,1952	19,9	4,40 — 3,08 = 1,32	30,0	10,1	190	0,0954	10,0	4,40 — 3,55 = 0,85	19,3	9,3
17	37	250	0,2883	29,4	4,40 — 2,62 = 1,78	40,5	11,1	250	0,1382	14,1	4,40 — 3,38 = 1,02	23,2	9,1
17	37	331	0,3996	40,8	4,40 — 2,15 = 2,25	51,1	10,3	330	0,2146	21,9	4,40 — 3,03 = 1,37	31,1	9,2
16	35	65	0,0330	3,4	4,38 — 3,97 = 0,41	9,4	6,0	65	0,0210	2,1	4,38 — 4,05 = 0,33	7,6	5,5
16	35	210	0,1562	15,9	4,38 — 3,15 = 1,23	28,1	12,2	210	0,1086	11,1	4,38 — 3,54 = 0,84	19,2	8,1
16	35	305	0,3022	30,8	4,38 — 2,52 = 1,86	42,5	11,7	305	0,1672	17,0	4,38 — 3,15 = 1,23	28,1	11,1

Wesentlich für unsere Frage ist indessen, daß die Differenz $\varDelta - C$ durch den Zusatz von Hefenextrakt durchweg erniedrigt wird. Da die genannte Differenz mit fortschreitender Gärungsreaktion bis auf einen Grenzwert ansteigt (siehe die Kurven in der erwähnten Arbeit von Euler und Johansson), so ist es schwer, Mittelwerte für diese Differenzen zu bestimmen. Ermittelt man diese Grenzwerte in den 4 Versuchsreihen der Tabelle 1, so ergibt sich, daß die Differenz $\varDelta - C$ durch Zusatz des Hefenextraktes vom Wert 9,8 auf 11,7, also um etwa 20 % steigt[1]).

Wir wollen bei der folgenden Überlegung der Einfachheit halber nur zwei Reaktionsphasen der Gärung annehmen, nämlich:

Glukose ⟶ Umwandlungsprodukt . . . Reaktion I,
Umwandlungsprodukt ⟶ $CO_2 + C_2H_5OH$ Reaktion II.

Unser experimentelles Resultat besagt nun, daß durch den genannten Zusatz der Drehungsrückgang in der Glukoselösung stärker beschleunigt wird als die Kohlensäureentwicklung.

Nehmen wir an, daß nur ein Co-Enzym der Gärung existiert, so ist es mit obigem Ergebnis kaum vereinbar, daß es der zweite Teil der Gärungsreaktion — Reaktion II — ist, welcher durch das Co-Enzym des Hefeextraktes beschleunigt wird.

Denn wäre dies der Fall, so könnte allerdings auch Reaktion I beschleunigt werden, und zwar indirekt dadurch, daß das Reaktionsprodukt durch die beschleunigte Reaktion II rascher entfernt wird; es wäre aber in diesem Fall schwer verständlich, daß Reaktion I prozentisch mehr wächst als Reaktion II.

Es bleiben also zwei Annahmen übrig: Entweder wird nur Reaktion I durch das einzige existierende Co-Enzym der Gärung beschleunigt und Reaktion II wächst, aber in geringerem Grade, dadurch, daß das Substrat durch Reaktion I schneller nachgeliefert wird; oder aber: der Hefenextrakt enthält wenigstens zwei Co-Enzyme, von welchen eines die Reaktion I, ein anderes die Reaktion II beschleunigt.

In diesem Fall können Hefenextrakte sowohl eine Vergrößerung als eine Verminderung der Differenz $\varDelta - C$ bewirken, je nachdem dieselben relativ mehr Co-Enzym I oder Co-Enzym II enthalten.

Wir haben nun unsere Versuche auf Münchener Hefe ausgedehnt und stellen die erhaltenen Zahlen in folgender Tabelle 2 zusammen. Bei den drei angegebenen Versuchsreihen war die Extraktionszeit ver-

---

[1]) Dabei ist zu bemerken, daß nach früheren hier ausgeführten Messungen eine Vergärung der an Phosphorsäure gebundenen Kohlehydrate nicht eintritt.

Tabelle 2. Münchener Hefe.

1		2	20 ccm 10prozentige Glukoselösung, 5 ccm Extrakt von Münchener Hefe, 1 g frische Hefe H.						20 ccm 10prozentige Glukoselösung, 5 ccm H_2O, 1 g frische Hefe H.					
	Temp. °C	% Trocken-substanz	Zeit in Min.	Entwickelte CO_2 g	Entwickelte CO_2 %	Drehungsänderung Δ in Graden	Drehungsänderung Δ %	Diff. Δ — C	Zeit in Min.	Entwickelte CO_2 g	Entwickelte CO_2 %	Drehungsänderung Δ in Graden	Drehungsänderung Δ %	Diff. Δ — C
a	15	37	115	0,0792	8,1	4,32 — 3,59 = 0,73	16,9	8,8	115	0,0566	5,8	4,32 — 3,75 = 0,57	13,2	7,4
a	15	37	172	0,1477	15,1	4,32 — 3,27 = 1,05	24,3	9,2	165	0,0951	9,7	4,32 — 3,55 = 0,77	17,8	8,1
a	15	37	235	0,2289	23,4	4,32 — 2,86 = 1,46	33,8	10,4	230	0,1576	16,1	—	—	—
b	15	37	65	0,0316	3,3	4,43 — 4,07 = 0,36	8,1	4,8	70	0,0290	3,0	4,43 — 4,07 = 0,36	8,1	5,1
b	15	37	160	0,1102	11,2	4,43 — 3,50 = 0,93	21,0	9,8	170	0,1009	10,3	4,43 — 3,60 = 0,83	18,7	8,4
b	15	37	227	0,1754	17,9	4,43 — 3,20 = 1,23	27,8	9,9	230	0,1172	11,9	4,43 — 3,40 = 1,03	23,2	11,3
b	15	37	289	0,2813	28,6	4,43 — 2,75 = 1,68	37,9	9,3	295	0,1730	17,6	4,43 — 3,20 = 1,23	27,8	10,2
c	15	33	80	0,0394	4,0	4,45 — 4,12 = 0,33	7,4	3,4	85	0,0300	3,1	4,45 — 4,09 = 0,36	8,1	5,0
c	15	33	205	0,1479	15,3	4,45 — 3,42 = 1,03	23,1	7,8	205	0,0776	8,0	4,45 — 3,65 = 0,80	18,0	10,0
c	15	33	262	0,2224	22,6	4,45 — 3,00 = 1,45	32,6	10,0	273	0,1384	14,1	4,45 — 3,36 = 1,09	24,5	10,4
c	15	33	325	0,3131	31,9	4,45 — 2,70 = 1,75	39,3	7,4	325	0,1946	19,9	4,45 — 3,16 = 1,29	29,0	9,1

Tabelle 3.

1	2	20 ccm 10prozentige Mannoselösung, 5 ccm H_2O, 1 g frische Hefe.						20 ccm 10prozentige Glukoselösung, 5 ccm H_2O, 1 g frische Hefe.					
Temp. °C	% Trocken-substanz	Zeit in Min.	Entwickelte CO_2 g	Entwickelte CO_2 %	Drehungsänderung in Graden	Drehungsänderung Δ %	Diff. Δ — C	Zeit in Min.	Entwickelte CO_2 g	Entwickelte CO_2 %	Drehungsänderung in Graden	Drehungsänderung Δ %	Diff. Δ — C
17	35	91	0,0366	3,7	1,14 — 0,99 = 0,15	13,1	9,4	90	0,0430	4,4	4,37 — 3,81 = 0,56	12,8	8,4
17	35	178	0,0854	8,7	1,14 — 0,91 = 0,23	20,2	11,5	168	0,0910	9,3	4,37 — 3,51 = 0,86	19,7	10,4
17	35	229	0,1198	12,2	—	—	—	219	0,1634	16,7	4,37 — 3,20 = 1,17	26,8	10,1
17	35	275	0,1544	15,7	1,14 — 0,82 = 0,32	29,8	14,1	275	0,2002	20,4	4,37 — 3,05 = 1,32	30,2	9,8

schieden, nämlich bei Versuch a etwa 3 Stunden, bei Versuch b und c nur 2 Stunden (Lösung b war schwach sauer, Lösung c neutral).

In der Versuchsreihe a hatte der Extrakt der Münchener Hefe denselben Effekt, den wir Tab. 1 zufolge für Stockholmer Hefe gefunden hatten: $\Delta - C$ steigt durch Zusatz des Extraktes.

In den Versuchsreihen b und c dagegen tritt dieser Effekt nicht ein; im Gegenteil fielen die Werte für $\Delta - C$ bei Gegenwart von Extrakt etwas kleiner aus als ohne Extrakt. Das Ergebnis liegt innerhalb der Grenzen der Versuchsfehler; denn wie ein Vergleich der einzelnen Versuchsreihen zeigt, ist $\Delta - C$ bei Münchener Hefe in allen Versuchen der Reihe a in Gegenwart von Extrakt größer, während alle Versuche der Reihen b und c ausnahmslos das entgegengesetzte Verhalten zeigen.

Man könnte das Ergebnis der beiden letzten Reihen im Sinne der Annahme II deuten, daß bei denselben die zwei Co-Enzyme infolge der veränderten Extraktionsdauer in einem anderen Verhältnis extrahiert worden sind als in der Versuchsreihe a. Indessen ist durch die wenigen Versuche diese Auffassung noch nicht genügend begründet.

Mannose wird von unserer Stockholmer Hefe H langsamer vergoren als Glukose, und zwar erweist sich der Unterschied der Geschwindigkeit um so größer, je größer die Konzentration des Zuckers ist[1]). Es war früher von Euler und Lundequist[1]) gefunden worden, daß 2prozentiges NaH_2PO_4 unter Bedingungen, unter welchen die Gärung der Glukose beschleunigt wird, die Gärung der Mannose unbeeinflußt läßt. Dies wurde (a. a. O.) so gedeutet, daß die bei der Vergärung der Mannose eintretenden Zwischenreaktionen teilweise andere sind als diejenigen, welche bei der Gärung der Glukose stattfanden. In Verfolgung des genannten Ergebnisses wurde also das Auftreten der Differenz $\Delta - C$ bei der Gärung der beiden Zuckerarten verglichen (s. Tab. 3).

Durch Interpolation findet man hieraus folgende Werte:

Tabelle 4.

Minuten	Δ — C	
	Mannose	Glukose
90	9,4	8,4
175	10,9	9,3
225	12,2	10,2
275	13,0	10,6

[1]) Euler und Lundequist, Zeitschr. f. physiol. Chem. **72**, 105; 1911.

Obwohl die Gärungsgeschwindigkeit der Mannose geringer ist als diejenige der Glukose, zeigt sich bei ersterer Zuckerart eine stärkere Differenz $\Delta - C$; die Geschwindigkeit der Reaktion II scheint also bei der Vergärung der Mannose gegenüber derjenigen der Glukose verzögert zu sein. Auch dieses Ergebnis deutet darauf hin, daß der Vorgang, welcher vom Zwischenprodukt der Reaktion I bis zur Bildung von Alkohol und Kohlensäure führt, in beiden Fällen nicht identisch ist.

Galaktose wird durch die meisten Bierhefen sehr viel langsamer vergoren als Glukose; vor der Anpassung der Hefe an diese Hexose ist die Gärung meist, und auch mit unserer Hefe H, minimal[1]. Es war denkbar, daß hier die Verzögerung an der Reaktion II liegt, und daß Hefe also eine starke Drehungsänderung in der Galaktose hervorruft, ohne daß eine erhebliche CO_2-Entwicklung eintritt, mit anderen Worten, daß die Differenz $\Delta - C$ hier sehr groß ist.

Wie die folgende Tabelle 5 zeigt, ist dies nicht der Fall. Man hat also anzunehmen, daß das Enzym der Reaktion I, die „Galaktase", bei der Anpassung erst gebildet werden muß.

Tabelle 5.

20 ccm 10 prozentige Galaktoselösung,
5 ccm H_2O,
1 g abgepreßte Hefe.

Temp. °C	% Trocken-substanz	Zeit in Min.	Entwickelte CO_2		Drehungsänderung		Diff. $\Delta - C$
			g	%	in Graden	Δ %	
16	33	135	0,0096	1,0	6,80 — 6,50 = 0,30	4,4	3,4
16	33	335	0,0107	1,1	6,80 — 6,49 = 0,31	4,6	3,5
16	33	427	0,0130	1,3	6,80 — 6,48 = 0,32	4,7	3,4
16	33	1234	0,0203	2,0	6,80 — 6,46 = 0,34	5,0	3,0

Wie durch die Beobachtungen von E. Buchner[2], besonders aber durch die eingehenden Versuche von Harden und Young[3] bekannt geworden ist, beschleunigen Arsenite und Arsenate die alkoholische Gärung. Nach den Ergebnissen der englischen Forscher wirken hierbei die genannten Salze ganz anders als die Phosphate; der Mechanismus dieser Beschleunigung ist noch nicht aufgeklärt.

---

[1]) Euler und Johansson, Zeitschr. f. physiol. Chem. 78.

[2]) E. Buchner, H. Buchner und M. Hahn, Die Zymasegärung. München 1903.

[3]) Harden und Young, Proc. Roy. Soc. 82.

Setzt man Arsenate zu lebender gärender Hefe, so tritt eine allmähliche Abnahme der Gärwirkung, also eine Vergiftung der Hefezellen ein, und zwar in sehr erheblichem Grade. Indessen bleibt während dieser Vergiftung die Differenz $\Delta - C$ fast ungeändert, wie die folgende Tabelle 6 zeigt.

Tabelle 6.

20 ccm 10prozentige Glukoselösung,
5 ccm 5prozentige Arsenatlösung,
1 g abgepreßte Hefe.

Temp. °C	% Trocken-substanz	Zeit in Min.	Entwickelte CO_2 g	Entwickelte CO_2 %	Drehungsänderung in Graden	Drehungsänderung %	Diff. $\Delta - C$
15	33	80	0,0196	2,0	4,25 — 3,82 = 0,43	10,1	8,1
15	33	198	0,0575	5,9	4,25 — 3,70 = 0,55	12,9	7,0
15	33	264	0,0890	9,1	4,25 — 3,56 = 0,69	16,2	7,1
15	33	335	0,1117	11,4	4,25 — 3,40 = 0,85	20,0	8,6

20 ccm 10prozentige Glukoselösung,
5 ccm H_2O,
1 g abgepreßte Hefe.

Temp. °C	% Trocken-substanz	Zeit in Min.	Entwickelte CO_2 g	Entwickelte CO_2 %	Drehungsänderung in Graden	Drehungsänderung %	Diff. $\Delta - C$
15	33	75	0,0237	2,4	4,25 — 3,81 = 0,44	10,4	8,0
15	33	192	0,0764	7,8	4,25 — 3,48 = 0,77	18,1	10,3
15	33	265	0,1319	13,5	4,25 — 3,23 = 1,02	24,0	10,5
15	33	325	0,1808	18,5	4,25 — 3,01 = 1,24	29,2	10,7

Schließlich seien einige Zahlen mitgeteilt, welche ermittelt wurden in Rücksicht auf den bemerkenswerten Nachweis von Franzen und seinen Mitarbeitern[1]), daß bei der alkoholischen Gärung Ameisensäure als Zwischenprodukt auftritt.

Je drei Kolben wurden mit 40 ccm 20prozentiger Glukoselösung und 2 g abgepreßter Hefe beschickt. Nach 100, 165 und 280 Minuten wurde filtriert. 20 ccm des Filtrates wurden mit 0,12 norm. NaOH titriert.

---

[1]) Journ. f. prakt. Chem. (2) **83**, 323; 1911. Zeitschr. f. physiol. Chem. **77**, 129; 1912.

Tabelle 7.

Temp. °C	% Trocken-substanz	Zeit in Min.	Entwickelte CO_2		Drehungsänderung		Diff. $\Delta - C$	ccm NaOH
			g	%	in Graden	%		
17	34	100	0,1446	3,7	13,15 — 12,01 = 1,14	8,7	5,0	1,9
17	34	165	0,2538	6,5	13,15 — 11,39 = 1,76	13,4	6,9	2,2
17	34	280	0,4945	12,6	13,15 — 10,72 = 2,43	18,5	5,9	3,2

Unsere Glukoselösung war 1,1 normal. Unter der Annahme, daß aus 1 Mol. Glukose 2 Mol. Ameisensäure entstehen, entspricht also die angewandte Zuckermenge 0,088 g Mol. Ameisensäure. Nach 4 Stunden sind nach den Ergebnissen der obigen Versuche 0,00072 g Mol. Ameisensäure anwesend, also etwa 1% der theoretisch möglichen Menge. Die anwesende Menge Ameisensäure ist also jedenfalls kleiner als die Differenz zwischen verschwundenem Zucker und entwickelter Kohlensäure. Wir werden auf den Vergleich der bei der Gärung gebildeten Ameisensäure und der Differenz $\Delta - C$ noch zurückkommen.

II.

Auch unsere weiteren Versuche beziehen sich auf das Verhältnis zwischen den Gärungsenzymen und ihren Aktivatoren.

Bei denselben haben wir durch Auswaschen von Trockenhefen Präparate hergestellt, welche gegen Zuckerlösungen ganz inaktiv waren, aber durch Zusatz von Waschwasser oder Extrakten anderer Hefen aktiviert werden konnten. Wir haben zunächst die CO_2-Entwicklung bei diesen Aktivierungen gemessen.

Ausgewaschene Trockenhefe, welche selbst nicht imstande ist, Glukose zu vergären (Tab. a1), wird in folgender Weise aktiviert (Tab. a2).

Tabelle a1.

1 g ausgewaschene Trockenhefe,
20 ccm 20prozentige Glukoselösung,
20 ccm H_2O.

Minuten	ccm CO_2	
75	0,5	0,5
119	0,8	0,7
256	—	0,8
403	—	0,8
1254	—	1,0

Tabelle a2.

1 g ausgewaschene Trockenhefe,
20 ccm 20prozentige Glukoselösung,
20 ccm Extrakt a.

Minuten	ccm CO_2	
65	9,2	8,9
115	14,2	14,1
185	19,2	20,2
247	24,7	24,3
381	33,3	37,4
536	46,4	50,2

Der zum Versuch der Tabelle a2 verwendete Extrakt a wurde in folgender Weise hergestellt:

60 g bei Zimmertemperatur getrocknete Hefe wurden mit 300 ccm Wasser während 4 Stunden bei 30° C extrahiert. Der Extrakt wurde abfiltriert und kurze Zeit auf 62° C erhitzt; hierdurch wurden sicher die Gärungsenzyme zerstört; die zum großen Teil koagulierten Eiweißkörper wurden durch Filtration entfernt.

In einem analog hergestellten, aber etwa 1 Minute auf 90° C erhitzten Extrakt wurde die freie und die organisch gebundene Phosphorsäure bestimmt. 20 ccm des Extraktes gaben mit Magnesiamischung 0,0892 g $Mg_2P_2O_7$, enthielten also 0,0763 g freies PO_4.

Die ausgewaschene Trockenhefe wurde auf ihren Gesamtgehalt an PO_4 untersucht[1]). Die Trockenhefe wurde verascht, und in der Asche wurde PO_4 bestimmt. 1 g Trockenhefe lieferte 0,0360 g $Mg_2P_2O_7$ = 0,0308 g PO_4.

Die fraktionierte Fällung des Extraktes hat folgendes Resultat geliefert: Der in oben beschriebener Weise hergestellte Extrakt wurde mit ungefähr dem doppelten Volumen 95prozentigen Alkohols gefällt. Es schied sich ein farbloses Salz ab, welches nach einigen Stunden abfiltriert wurde (Fällung 1). Die alkoholische Lösung wurde auf etwa 75 ccm im Vakuum eingeengt und wieder mit dem 3—4fachen Volumen Alkohol versetzt.

Die dabei auftretende „Fällung 2“, ein farbloses Salz, wurde wiederum nach einigen Stunden abfiltriert. Das Filtrat wurde von neuem im Vakuum auf etwa 50 ccm eingedampft.

Eine Prüfung der „Fällung 1“ mit Magnesiamischung zeigte, daß die Substanz sehr viel anorganisches Phosphat enthielt. Auch „Fällung 2“ enthielt anorganisches Phosphat; das schließliche Filtrat enthielt in 5 ccm 0,8 g Trockensubstanz.

„Fällung 1“ war nicht imstande, mit ausgewaschener Trockenhefe Gärung der Glukose hervorzurufen. Das eingedunstete Filtrat b dieser Fällung rief dagegen unter den entsprechenden Umständen Gärung hervor.

---

[1]) Es kam die gleiche Hefe H zur Untersuchung, mit welcher Euler und Lundequist (Zeitschr. f. phys. Chem. **72**, 97; 1911) gearbeitet haben. — Vergl. auch die von Buchner und Hahn ausgeführten Phosphorbestimmungen (Biochem. Zeitschr. **27**, 418; 1910).

Tabelle b1.
1 g ausgewaschene Trockenhefe,
20 ccm 20prozentige Glukoselösung,
20 ccm Filtrat b.

Minuten	ccm CO_2	
	1	2
42	11	11
68	26	23
130	50	50
180	59	59
220	68	67
250	74	71
460	106	101
510	117	109

Tabelle b2.
1 g ausgewaschene Trockenhefe,
20 ccm 20prozentige Glukoselösung,
0,1 g „Fällung 1“ + 20 ccm HO_2.

Minuten	ccm CO_2	
	1	2
54	3,0	3,5
114	3,2	3,9
269	3,5	4,0
377	3,8	4,2

Die „Fällung 2“ war gärungsunwirksam, und auch das eingedunstete Filtrat c dieser Lösung rief so gut wie keine Gärung hervor.

Dagegen wurde, bis jetzt allerdings nur bei einer Versuchsreihe, gefunden, daß eine erhebliche Gärung eintritt, wenn zu der ausgewaschenen Trockenhefe gleichzeitig Fällung 1 (oder 2) und Filtrat c gefügt wurde.

Bei jedem der folgenden Versuche c kam 1 g ausgewaschene Trockenhefe zur Anwendung.

Tabelle c1.
20 ccm 20prozentige Glukoselösung,
10 ccm Filtrat c + 10 ccm H_2O.

Minuten	ccm CO_2
43	3,0
86	3,2
135	3,5

Tabelle c2.
20 ccm 20prozentige Glukoselösung,
5 ccm Filtrat c + 0,5 g Fällung 1.

Minuten	ccm CO_2
41	20,8
70	33
116	45
162	56,2
195	63
228	70

Dieses Ergebnis läßt sich so deuten, daß zum Zustandekommen der Gärung außer den Gärungsenzymen zwei nicht wärmeempfindliche Substanzen erforderlich sind, nämlich das Harden-Youngsche Co-Enzym (enthalten im Filtrat c) und noch ein anderer Aktivator, welcher ebenfalls aus Trockenhefe extrahiert werden kann und in wässerigem Alkohol schwerer löslich ist als das Hardensche Co-Enzym.

Unser Resultat bedarf indessen noch der Bestätigung, denn bei einer Wiederholung konnte das Filtrat c nicht mehr durch die Fällung 1 aktiviert werden. Es ist zu betonen, daß die Ausführung der oben erwähnten Fraktionierung mit gewissen Schwierigkeiten verknüpft ist; einerseits muß nämlich zum Extrakt so viel Alkohol zugesetzt werden, und die Lösung muß so weit eingedunstet werden, daß die Phosphate vollständig ausfallen, andererseits wird bei den erforderlichen Eindunstungen und anderen Operationen das Co-Enzym leicht zerstört.

Mit dem gleichen Filtrat c und je 1 g ausgewaschener Trockenhefe wurden noch folgende Messungen ausgeführt:

Tabelle d1.

20 ccm 20 prozentige Glukoselösung,
5 ccm Filtrat c,
0,5 g Na-Phosphorsäureester.

Minuten	ccm CO_2
58	9,6
85	13
135	22
180	29
211	32
250	33

Tabelle d2.

20 ccm 20 prozentige Glukoselösung,
5 ccm Filtrat c,
5 ccm 5 proz. Na_2HPO_4.

Minuten	ccm CO_2
55	5,2
82	7,4
130	8,0
176	9,0
207	9,5
245	9,7

Auffallend ist, daß in beiden letzten Fällen sowie in Tabelle c2 die Kohlensäureentwicklung rasch abnimmt und nach etwa 10 Stunden zum Stillstand zu kommen scheint, lange bevor die anwesende Glukose verbraucht ist. Man könnte daran denken, daß es beim Versuch Tabelle d1 das Natriumestersalz ist, welches der Gärung unterliegt, und daß die hier beschriebene Erscheinung darauf beruht, daß Fällung 1 einen Kohlehydratphosphorsäureester enthält, welcher durch die ausgewaschene Trockenhefe und Filtrat c vergoren wird, während diese zwei Komponenten nicht imstande sind, die Glukosevergärung hervorzurufen. Es würde unser Befund also der von L. Iwanoff gefundenen Erscheinung entsprechen, daß die Kohlehydratkomponente der organischen Phosphorester durch solche Mischungen von Hefe und Co-Enzym vergoren werden kann, welche zur Vergärung der Glukose nicht ausreicht. Demgegenüber ist aber hervorzuheben, daß unsere Fällung 1 sehr wenig organisches Phosphat enthält. Die Kohlehydratkomponente würde keinesfalls zur Entwicklung von mehr als 20 ccm CO_2 ausgereicht haben.

Der in der Fällung 1 enthaltene Aktivator scheint in der Hefe nicht in der Menge vorhanden zu sein, welche die maximale Gärungsgeschwindigkeit hervorrufen kann. Gewöhnliche Trockenhefe wird nämlich durch die Fällung 1 stark aktiviert, wie folgender Versuch zeigt:

Tabelle e1.

0,5 g Trockenhefe,
20 ccm 20prozentige Glukoselösung,
20 ccm H_2O.

Minuten	ccm CO_2	
43	—	6,5
101	8	9,1
156	12,2	12,5
208	15,7	15,5
345	29	29,5
390	41,8	38
475	60	52

Tabelle e2.

0,5 g Trockenhefe,
20 ccm 20prozentige Glukoselösuug,
0,2 g Fällung 1 + 20 ccm H_2O.

Minuten	ccm CO_2	
50	13,3	13,1
112	43,3	44,0
152	74	68

Auch die Gärung der lebenden Hefe wird durch „Fällung 1“ erheblich beschleunigt.

Tabelle f1.

0,25 g abgepreßte Hefe,
20 ccm 20prozentige Glukoselösung,
0,2 g „Fällung 1“ + 20 ccm H_2O.

Minuten	ccm CO_2	
69	14,5	17,0
114	36,0	38,5
196	77,5	83,0
241	106,5	104
257	130	137
304	151,5	162
346	177,5	185

Tabelle f2.

0,25 g abgepreßte Hefe,
20 ccm 20prozentige Glukoselösung,
20 ccm H_2O.

Minuten	ccm CO_2	
60	12,5	11,9
107	23,0	23,2
198	50,5	49,3
220	57	56
250	63	63
293	75	74,5
333	91	91,6

Im Anschluß an diese Messungen wurde untersucht, ob auch nukleinsaures Natrium, dessen Anwesenheit im Extrakt der Trockenhefe festgestellt wurde, die Gärung der lebenden Hefe beschleunigt.

Eine Wirkung der Nukleinsäure auf die fermentativen Prozesse im tierischen Organismus hat Tschernoruzki[1]) gefunden.

[1]) Tschernoruzki, Biochem. Zeitschr. **36**, 363, 1911.

Tabelle g1.

0,25 g abgepreßte Hefe,
20 ccm 20prozentige Glukoselösung,
1 g nukleins. Na + 20 ccm H_2O.

Minuten	ccm CO_2 1	ccm CO_2 2
57	10,8	10,5
160	43	40
217	75	69
280	120	109
307	128	128

Tabelle g2.

0,25 g abgepreßte Hefe,
20 ccm 20prozentige Glukoselösung,
20 ccm Extrakt aus Trockenhefe.

Minuten	ccm CO_2 1	ccm CO_2 2
107	17,5	18,4
162	46	52
222	80	88
293	111	122

Tabelle g3.

0,25 g abgepreßte Hefe,
20 ccm 20prozentige Glukoselösung,
20 ccm H_2O.

Minuten	ccm CO_2 1	ccm CO_2 2
61	7,2	7,2
162	19,5	21,2
221	30,0	32,5
281	40,0	41,6
308	47	47

Tabelle g4.

0,25 g abgepreßte Hefe,
20 ccm 20prozentige Glukoselösung,
0,5 g nukleins. Na + 20 ccm H_2O.

Minuten	ccm CO_2 1	ccm CO_2 2
55	10,0	10,5
113	26	28
205	72	72,5
223	85	86
317	143	144
365	164	—

Tabelle g5.

0,25 g abgepreßte Hefe,
20 ccm 20prozentige Glukoselösung,
0,25 g nukleins. Na + 20 ccm H_2O.

Minuten	ccm CO_2 1	ccm CO_2 2
55	10,0	10,2
114	28	27,6
210	72	74
226	85	86
315	140	—
365	162	—

Tabelle g6.

0,25 g abgepreßte Hefe,
20 ccm 20prozentige Glukoselösung,
20 ccm H_2O.

Minuten	ccm CO_2 1	ccm CO_2 2
52	7,5	7,0
110	18,2	17,0
225	49	46
314	68,5	57
364	80,5	—

Zusammenfassung.

1. Durch den Extrakt getrockneter Hefe wird die durch lebende Hefe hervorgegangene Gärung um etwa 100 % beschleunigt.

2. Die bei der alkoholischen Gärung durch lebende Hefe auftretende Differenz $\Delta - C$ zwischen dem Rückgang der optischen Drehung einer gärenden Zuckerlösung und der entwickelten Kohlensäure wird durch Zusatz von Hefenextrakt um etwa 20 % vergrößert.

Dieses Ergebnis läßt zweierlei Deutungen zu: Nimmt man zwei Teilreaktionen der alkoholischen Gärung an, nämlich:

Hexose ⟶ Zwischenprodukt (Reaktion I) und

Zwischenprodukt ⟶ Alkohol + Kohlensäure (Reaktion II),

so wird, falls der Hefenextrakt nur ein Co-Enzym enthält, Reaktion I beschleunigt, oder aber es besteht für jede der Teilreaktionen ein Co-Enzym, und ihre Beschleunigung erfolgt in ungleichem Grade, je nach den relativen Mengen der im Extrakt vorhandenen Co-Enzyme.

3. Zwischen den Gärungsvorgängen bei der Mannose und Glukose wurden wie früher Unterschiede nachgewiesen.

4. Durch Arsenate wird die Differenz $\Delta - C$ nicht geändert.

5. Eine fraktionierte Fällung des Hefenextraktes läßt vermuten, daß derselbe zwei wärmestabile, zum Zustandekommen der alkoholischen Gärung notwendige Aktivatoren enthält. Die betreffenden Beobachtungen bedürfen der weiteren Untersuchung.

6. Die Gärung durch lebende Hefe wird durch nukleinsaures Natrium stark beschleunigt.

Beiträge zur Mykologie.

Von Prof. Dr. **Franz v. Höhnel.**

II. Über die Gattung Crinula.

Die Gattung Crinula wurde 1821 von Fries[1]) aufgestellt auf Grund der Art: Crinula caliciiformis. Diese Art ist nach Fries' Beschreibung, in der ausdrücklich angegeben wird, daß Asci völlig fehlen, offenbar eine Phaeostilbee, welche sich von Graphium Corda 1837 hauptsächlich dadurch unterscheidet, daß sie unten eine Wurzel besitzt, die tief in das Substrat eindringt. Crinula muß daher als Formgattung erhalten bleiben und neben Graphium gestellt werden.

Später hat Fries[2]) Crinula in Beziehung zu der von Schulzer[3]) beschriebenen Ditiola? mucida gebracht, und somit erkannt, daß der Konidienpilz der Ditiola? mucida Schulz. eine Crinula ist, was zweifellos richtig ist. Schulzer gibt an, daß sich aus dem Konidienpilz der Ascuspilz (ein Discomycet) entwickelt. Dies ist jedoch ganz unwahrscheinlich und wird von Schulzer auch nicht bewiesen. Offenbar gehört der Discomycet als Hauptfruchtform zur Crinula, ist aber nicht aus dieser entstanden. P. A. Saccardo[4]) hat nun 1889 offenbar durch Fries' Bemerkungen auf die Ditiola? mucida Schulz. aufmerksam geworden, den Namen Crinula auf Schulzers Pilz übertragen und so Crinula zu einer Discomyceten-Gattung gemacht, ein Vorgang, der nicht gebilligt werden kann, dem aber Boudier[5]) und Clements[6]) gefolgt sind.

Vergleicht man nun Schulzers Abbildungen und Beschreibung der Ditiola? mucida mit den Bildern und der Beschreibung von Holwaya

---

[1]) Fries, Systema mycologic. I., S. 495.

[2]) Fries, Hymenomycetes europaei, 1874, S. 681.

[3]) Schulzer, Verhandl. zool.-botan. Gesellsch., Wien, 1860, X. Bd., S. 322, Taf. I.

[4]) P. A. Saccardo, Sylloge fungorum 1889, VIII. Bd., S. 606.

[5]) E. Boudier, Hist. et. Classification des Discomycètes, 1907, S. 162.

[6]) Clements, Genera of Fungi, 1909, S. 66.

gigantea (Peck) Dur.[1]), so erkennt man ohne weiteres, daß diese beiden Pilze mindestens sehr nahe miteinander verwandt sind. Die Crinula mucida (Schulz.) Sacc. ist daher eine Holwaya.

Die Holwaya gigantea (Peck) Dur. hat als Nebenfruchtform Graphium giganteum (Peck) Sacc.[2]). Es wird zwar weder von Peck, noch von Durand angegeben, ob Graphium giganteum eine in das Substrat eindringende Wurzel hat, nachdem aber der Ascuspilz eine solche besitzt und die Holwaya gigantea der Ditiola? mucida augenscheinlich ganz nahe steht, ist dies im höchsten Grade wahrscheinlich. Es wird daher Graphium giganteum eine Crinula im Sinne Fries' sein.

Die Gattung Crinula Saccardo fällt mit der Gattung Holwaya Saccardo[3]) zusammen.

Holwaya wurde von Saccardo zu den Bulgarieen gestellt, weil Ellis die Holwaya gigantea (Peck) Dur. = H. Ophiobolus (Ellis) Sacc. zuerst als Bulgaria Ophiobolus beschrieb. Durand stellt Holwaya zu den Patellariaceen, wogegen aber der lange Stiel der Ascomata spricht. Da ich die besprochenen Formen nicht zu untersuchen in der Lage war, muß es einer vergleichenden Prüfung derselben überlassen bleiben, die gemachten Angaben zu kontrollieren.

III. Über Discomycopsis rhytismoides J. Müll.

Beim Studium der gründlichen Arbeit Jul. Müllers über die Runzelschorfe[4]) gewann ich die Überzeugung, daß die Deutung, welche der Autor den sich auf die neuaufgestellte Gattung Discomycopsis beziehenden zweifellos richtigen Tatsachen gibt, nicht haltbar ist, und daher diese neue Gattung wieder eingezogen werden muß.

Da mir indes noch gewisse Zweifel blieben, bin ich Herrn Dr. J. Müller sehr verbunden, daß er mir auf meine Bitte hin ein reichliches Material an Exsikkaten und mikroskopischen Original-Präparaten sandte, die ich studieren konnte.

Mit Hilfe dieses Materials konnte ich mich davon überzeugen, daß meine Ansicht über das Wesen der Gattung Discomycopsis ganz richtig war.

---

[1]) Durand, Bull. Torrey Botanical Club, 1901, 28. Bd., S. 349, Taf. 26.

[2]) P. A. Saccardo, Sylloge fungorum, 1886, IV. Bd., S. 611.

[3]) P. A. Saccardo, Sylloge fung. 1889, VIII., S. 646.

[4]) Pringheims Jahrb. f. wissensch. Botanik, 1893, XXV. Bd., S. 607, Taf. XXVII—XXIX.

In Kürze gefaßt ist der Sachverhalt folgender.

Wenn Rhytisma acerinum sich normal entwickelt, bildet es unter der Kutikula oder auch die Epidermiszellen ausfüllend ein mehr minder ausgebreitetes Stroma aus, das innen farblos und weichfleischig ist und oben (außen) eine mehr minder dicke, kohlige Decke bildet. Die Basalschichte dieses Stromas ist entweder auch farblos oder in einer meist nur dünnen Schichte kohlig. Dieses normale Stroma schreitet sehr bald zur Melasmia-Conidienbildung und entwickelt im nächsten Frühjahre die Asci. Dieses normale Stroma besteht aus senkrechten Reihen von kurzen Zellen, die aber von den verkohlten Partien abgesehen, sehr weiche Zellmembranen besitzen und sehr ölreich sind, wodurch die regelmäßige Anordnung der Zellen in aufrechten Reihen nicht immer deutlich und leicht zu erkennen ist. Doch kann man sie wenigstens stellenweise immer sicher nachweisen.

Unter Umständen nun, vielleicht infolge zu großer Trockenheit bleibt das Stroma steril. Dann tritt eine stärkere Verkohlung des Stromagewebes ein, die Zellwände werden steifer und deutlicher und nun ist der regelmäßige Aufbau des Stromas aus palisadenartig nebeneinander stehenden senkrechten Zellreihen ganz deutlich. Solche sterile Stromata können sich auch stärker verdicken, sie sind dann seitlich ganz scharf abgegrenzt und sehen von den normalen Stromaten makro- und mikroskopisch verschieden aus, so daß man einen andern Pilz vor sich zu haben glaubt. Solche Stromata fand Müller mehrfach in Schlesien auf Blättern vom Bergahorn, und ich auf solchen von Acer obtusatum 1903 bei Jaize in Bosnien. Sie finden sich auch auf meinem Exemplar aus der Mycotheca italica D. Saccardos Nr. 1059 aus der Gegend von Belluno.

Diese sterilen Rhytisma-Stromata sind entweder wenigstens stellenweise am ganzen Querschnitte mehr minder verkohlt, oder zeigen meist in der Mitte des Querschnittes eine blasse oder hyaline Zone, die oft in kleine lokuliartige Teile zerfällt. Der Pilz macht dann den Eindruck einer unreifen Dothideacee mit Lokuli; doch zeigen diese Scheinlokuli am Querschnitte keinerlei Andeutung einer Wandung, wie Müllers Figuren a. a. O., Taf. XXVII, 2, 3, 4 ganz schön erkennen lassen. Es sind auch keine Lokuli, sondern nur hellgebliebene, nicht verkohlte Partien des Stromas. Diese Scheinlokuli öffnen sich daher auch nicht, so lange das Stroma lebend ist. Erst wenn dieses abzusterben und zu vermorschen beginnt, reißt die Stromadecke oben oft über den Scheinlokuli auf, da die nicht verkohlten Zellen dieser stärker quellungsfähig sind und die morsche, kohlige Decke herausdrücken. Diese so mechanisch

geöffneten Scheinlokuli zeigen daher auch gar keinen reifen Inhalt, sondern sind mit den parallelen senkrechten Reihen des Stromagewebes ausgefüllt. Müllers mikroskopische Präparate zeigen deutlich, daß jene Stromata, die offene Scheinlokuli aufweisen, bereits tot und halbvermorscht waren. Unreife Perithezien oder Lokuli öffnen sich im lebenden Zustande nie. Erst in den bereits geöffneten Scheinlokuli findet nach J. Müller und nach seinen Präparaten die Entwicklung der großen kugeligen Discomycopsis-Sporen statt. Es treten (offenbar fremde) Hyphen in den Scheinlokuli auf, in denen interkalar die braunen Sporen entstehen. Es ist klar, daß diese Sporen nur die Folge einer Infektion der absterbenden oder bereits vermorschten Stromata sein können.

Es ist nicht möglich, mit Sicherheit zu sagen, wohin der infizierende Pilz gehört. Ich vermute, daß die kugeligen Sporen Sporangien oder Dauersporen einer Chytridiacee, vielleicht aus der Verwandtschaft von Rhizophidium oder Hyphochytrium sind. Hier und da schien es mir, daß der Inhalt der Sporen in sehr kleine nackte Zellen zerfallen ist.

Noch bemerke ich, daß die geringe Anzahl der gebildeten Sporen, ihre unverhältnismäßige Größe, ihr Bau, die Art ihrer Entstehung, die Bildung derselben erst nach Öffnung der Scheinlokuli, der vermorschte Zustand des Stromas zur Zeit der Entwicklung der Sporen, die Unmöglichkeit den ganzen Pilz von Rhytisma zu unterscheiden und der Bau der Scheinlokuli lauter klare Hinweise darauf sind, daß es sich nicht um eine Nebenfruchtform handelt, sondern um ein infiziertes steriles bereits abgestorbenes Stroma.

IV. Zur Biologie und Systematik der Gattung Trichothyrium Spegazzini.

Mir sind 6 Formen bekannt, die im wesentlichen denselben Bau haben und offenbar in die Gattung Trichothyrium gehören. Es sind dies:

1. Trichothyrium sarciniferum Speg.[1]).
2. Tr. serratam Speg.[2]).
3. Tr. asterophorum (B. et Br.) v. H.[3]).
4. Trichopeltopsis reptans v. H.[4]).

---

[1]) C. Spegazzini, Fungi Puiggariani, I., Nr. 342 in Boletin Academ. nacion. de Ciencias, Cordoba (Republ. argentina), 1889, XI. Bd., S. 556.

[2]) C. Spegazzini, a. a. O. Nr. 343, S. 557.

[3]) F. v. Höhnel, Fragmente z. Mykol. 1909, IX. Mitt., Nr. 424 in Sitzb. Kais. Akad. Wien, math.-nat. Kl., 118. Bd., Abt. I., S. 1482.

[4]) F. v. Höhnel, Fragm. z. Mykol. 1909, VII. Mitt., Nr. 325, a. a. O., S. 859.

5. Trichothyrium jungermannoides Racib.[1]).
6. Tr. densum Racib.[2])

Die Perithezien aller dieser Pilze sind flachgedrückt, linsenförmig, (nicht halbiert schildförmig); sowohl die obere, wie die untere Hälfte derselben ist flach schüsselförmig, und jede einzellschichtig, aus radiären Reihen von braunen Parenchymzellen bestehend. Ein deutliches Ostiolum ist vorhanden. Sporen hyalin, zweizellig (bei Tr. densum Racib. angeblich schließlich 3-zellig).

Die Perithezien wurden mehrfach als halbiert-schildförmig beschrieben. So von Spegazzini für Tr. sarciniferum, von Raciborski für Tr. jungermannoides und densum, von mir für Tr. asterophorum. Allein schon Spegazzini sah bei Tr. serratum die obere und untere Membranhälfte der Perithezien, und meinte daher, daß diese Art vielleicht den Typus einer neuen Gattung darstelle. Bei der sonstigen weitgehenden Übereinstimmung von Tr. sarciniferum mit Tr. serratum zweifele ich nicht daran, daß diese Arten beide die gleichen Perithezien besitzen. Bei Tr. asterophorum, jungermannoides und densum habe ich nun auch festgestellt, daß die Perithezien nicht halbiert schildförmig, sondern linsenförmig mit oben und unten gut entwickelter Membran sind.

Bei Tr. sarciniferum und asterophorum sind vierzellige, stachelige sarcina-artig geteilte Konidien beschrieben worden. Dieselben Konidien fand ich auch bei T. jungermannoides. Vielleicht kommen sie bei allen Arten vor, doch nur spärlich entwickelt und leicht zu übersehen.

Höchst charakteristisch ist nun der Thallus gebaut. Er bildet dem Substrat angewachsene verzweigte Bänder, die eine Art Mittelrippe undeutlich erkennen lassen und aus zweierlei Hyphen bestehen. In der Mitte der Bänder verläuft unterseits eine dicke, steife, dunklere, derbwandige, meist braun-purpurne Hyphe mit Hyphopodien. Diese Grund- oder Haupthyphe markiert die Mittelrippe. Sie wird von einer dünnen Schichte von meist mehr gelbbraunen Hyphen bedeckt und umsponnen, die zu beiden Seiten oft membranartig-lappig verwachsen. Diese viel dünneren Hyphen stehen mit der dicken Grundhyphe in keinem Zusammenhange, sie bilden ein eigenes Hyphensystem. An diesen dünnen Deckhyphen sitzen niemals Hyphopodien, sie zeigen auch einen anderen Verlauf und es ist augenscheinlich, daß Grundhyphen und Deckhyphen zwei voneinander verschiedenen Pilzen angehören.

---

[1]) M. Raciborski, Bullet. Acad. Cracovie 1909, S. 379.
[2]) M. Raciborski, a. a. O., S. 380.

Die Grundhyphen gehören in der Tat zu einer Meliola. Bei dem untersuchten Exemplare von Trichothyrium asterophorum (aus dem Kew-Herbar) sitzt neben diesem Pilze eine Meliola, deren Hyphen von den Trichothyrium-Grundhyphen nicht zu unterscheiden sind. Bei dem Exemplare von Trichopeltopsis reptans v. H. fand ich schon 1909 an jüngeren Teilen des Pilzes aufrechtstehende, 200 = 6 μ große Borsten, wie sie bei Meliola-Arten so häufig vorkommen. Es war mir schon damals fraglich, ob die Borsten zum Pilze gehören (Fragm. Nr. 325).

Ferner fand ich bei dem Exemplare von Tr. jungermannoides, das ich 1907 am Original-Standorte bei Depok in Java gesammelt hatte, auf demselben Blatte eine Meliola, deren Hyphen von den Grundhyphen des ersteren Pilzes nicht verschieden waren.

Aus diesen Tatsachen geht hervor, daß dasjenige, was man bisher als Trichothyrium beschrieben hat, aus zwei Pilzen besteht, aus den sterilen Basalhyphen einer Meliola, auf denen ein anderer Perithezien bildender Pilz schmarotzt.

Dieser Tatsache entsprechend muß nun, mit Berücksichtigung des oben über die Perithezien Gesagten, die Gattungscharakteristik von Trichothyrium geändert werden.

Trichothyrium Spegazz., char. emend. v. Höhnel. Auf den sterilen Basalhyphen von Meliola-Arten schmarotzend. Steriles Gewebe Subiculum-artig entwickelt, die Meliola-Hyphen in Form von bandartigen, seitlich oft mit radiär-gebauten Lappen versehenen, im übrigen faserig-gefransten Gebilden bedeckend und umhüllend. Einzelne Bänder der Verzweigung der Meliola-Hyphen entsprechend verästelt, häufig jedoch zu dichten opaken, stromaartigen Massen verschmelzend. Perithezien linsenförmig flach, oben und unten vollständig entwickelt, mit Ostiolum, dem Subiculum frei aufsitzend. Perithezien-Membran einzellschichtig, aus regelmäßigen Radialreihen von rechteckigen Zellen bestehend. Paraphysen vorhanden. Asci keulig, achtsporig. Sporen hyalin 2- (3-) zellig. Hyphen-Gewebe und Perithezien braun. Vierzellige, stachelige, übers Kreuz geteilte Konidien bekannt.

Was die Verwandtschaft von Trichothyrium anlangt, so ist diese Gattung keine Microthyriacee, da die Perithezien nicht invers und nicht halbiert schildförmig sind. Unter den mir bekannten Perithezien hat nur Loranthomyces sordidulus (Lév.) v. H.[1]) gleichgebaute Perithezien. Dieser Pilz schmarotzt jedoch nicht auf Meliola und

---

[1]) F. v. Höhnel, Fragm. z. Mykol. 1909, VII. Mitt., Nr. 310; a. a. O., S. 838.

bildet ein deutliches oberflächliches Stroma aus. Loranthomyces und Trichothyrium bilden eine kleine Familie. deren Stellung unsicher ist. Trotz des meist deutlichen Ostiolums wird diese Familie wegen der einfachen Perithezien-Membran vielleicht am besten neben die Perisporiaceen zu stellen sein.

Die von mir aufgestellte Gattung Trichopeltopsis fällt mit Trichothyrium zusammen. Als ich sie aufstellte, nahm ich nach Spegazzinis Angaben an. daß Trichothyrium halbiert-schildförmige inverse Perithezien (Thyriothezien) besitzt. Bei der großen Ähnlichkeit, die der Typus der Gattung: Tr. sarciniferum Speg. jedoch mit den von mir genau studierten Arten Tr. reptans Ar., asterophorum und jungermannoides besitzt, ist es nunmehr gewiß, daß Spegazzinis Angaben über die Perithezien falsch sind.

Die im Vorstehenden mitgeteilten Tatsachen finden ihre volle Bestätigung in einer soeben erschienenen Arbeit von F. Theyssen[1]).

V. Über Hamaspora longissima (Thüm.) Körn.

Dieser bis dahin nur aus Südafrika bekannt gewesene Pilz wurde, wenn auch mit Zweifeln, von Raciborski[2]) für Java angegeben und in Crypt. paras. javanic. Nr. 31 vom Merapi-Berge ausgegeben. Ich fand denselben 1907 auch bei Depok in der Ebene. Er ist also in Java jedenfalls weit verbreitet. Der Vergleich der Original-Exemplare von Phragmidium longissimum Thümen in seiner Mycoth. universalis Nr. 542 und 1349 mit dem javanischen Pilze zeigte mir, daß beide offenbar derselben Art angehören. Vergleicht man allerdings die Beschreibungen Thümens, Körnickes und Raciborskis miteinander, so findet man große Unterschiede.

Ich finde, daß die Teleutosporen einen bis über 600 μ langen Stiel haben, der aus 4—5 Zellen besteht. Die unteren Zellen sind kurz; dünnwandig und hinfällig, die oberste ist sehr lang, unten und meist auch oben sehr dickwandig. sonst dünnwandig und bandförmig. Die hyalinen, glatten 2—4-zelligen Teleutosporen sind 70—120 = 15 μ groß. Die oberste Zelle ist kegelförmig, spitz. Die Uredosporen scheinen in Ketten zu stehen, also eigentlich Caeomasporen zu sein. Sie haben eine 2—2,5 μ dicke Wandung, und sind kleinwarzig-kurzstachelig. Die Wärzchen stehen 2—3 μ weit voneinander ab. Raciborski, der den Pilz in frischem Zustande gesehen hat, gibt an, daß die 1—5 mm langen

[1]) F. Theyssen, Annales mycol. 1912, X. Bd., S. 26.

[2]) Raciborski, Parasitische Algen und Pilze Javas, Batavia, 1900, I. Teil, S. 21.

Fäden, zu welchen die Teleutosporen samt ihren Stielen verklebt sind, bei feuchtem Wetter gallertartig sind; am trockenen Pilze ist von dieser Gallerte nichts mehr wahrzunehmen.

Was die Verwandtschaft der Gattung Hamaspora anlangt, so sagt Körnicke[1]), daß sie in der Mitte zwischen Phragmidium und Gymnosporangium steht. Raciborski hält sie als nicht verwandt mit Gymnosporangium, und Arthur[2]) führt sie als synonym mit Gymnosporangium Hedw. (= Aecidium Pers.) auf. Diese Ansichten erklären sich z. T. aus dem Umstand, daß Körnicke in seine Gattung Hamaspora zwei Pilze stellt, die voneinander völlig verschieden sind und in zwei ganz verschiedene Abteilungen der Uredineen gehören nämlich:

1. Podisoma Elisii Berk. ist ein echtes Gymnosporangium auf Nadelholz (Cupressus) mit Aecidien auf Pirus. Irgend ein Grund zur Abtrennung dieser Art von Gymnosporangium existiert nicht.

2. Mit dieser Art hat Phragmidium longissimum Thümen gar keine nähere Verwandtschaft. Es wächst so wie die Mehrzahl der Phragmidiatae Arth. auf einer Rosaceae (Rubus) und ist zweifellos mit Phragmidium nahe verwandt, wie dies schon Thümen gesehen hat. Es unterscheidet sich aber durch die hyalinen zu einem Faden schleimig verklebten sehr lang gestielten Teleutosporen und weitere Einzelheiten[3]).

Die Verwandtschaft dieses Pilzes mit Phragmidium, Phragmidiella, Xenodochus und Kühneola ist in die Augen springend.

Die Gattung Hamaspora ist daher eine Mischgattung und je nachdem man die eine oder die andere der beiden Arten derselben als ihren Typus betrachtet, ist ihre Stellung eine ganz verschiedene.

Da Körnicke Hamaspora Ellisii K. als erste Art der Gattung (also eigentlich als den Typus derselben) anführt, so setzt Arthur mit Recht Hamaspora = Aecidium = Gymnosporangium. Hamaspora im Sinne Körnickes ist eine unhaltbare Mischgattung, eigentlich ein Synonym, und daher zu streichen. Phragmidium longissimum Thümen ist von den typischen Arten der Gattung viel auffallender verschieden als Kühneola und Phragmidiella; wenn man daher diese beiden Gattungen und mit Recht aufrecht erhält, muß für Phragmidium longissimum eine neue Gattung geschaffen werden, die man Hamasporella nennen könnte.

---

[1]) Körnicke, Hedwigia, 1877, XVI. Bd., S. 22.

[2]) Arthur, Resultats scientif. Congrès internation. botanique, Vienne, 1905, S. 342.

[3]) P. Magnus, Berichte der deutsch. botan. Gesellsch., 1899, XVII. Bd., S. 182.

Ich stimme daher, was die Streichung der Gattung Hamaspora anlangt, mit Arthur, Dietel und Magnus völlig überein, nicht aber damit, daß Phragmidium longissimum bei der Gattung Phragmidium belassen bleibt. Xenodochus, Phragmidiella und Kühneola sind weit weniger von Phragmidium verschieden als Hamasporella.

VI. Über die auf Araliaceen wachsenden Triphragmium-Arten.

T. Petch[1]) sagt, daß Triphragmium Thwaitesii auf Hedera Vahlii nur wenig von Tr. clavellosum auf Paratropia therebinthacea verschieden ist, und es fraglich ist, ob Berkeley diese zwei Triphragmium-Arten unterschieden hätte, wenn er gewußt hätte, daß die zwei genannten Nährpflanzen miteinander identisch sind. Es wäre in der Tat auffallend, daß bei Peradenyia auf derselben Nährpflanze zwei verschiedene, einander sehr ähnliche Triphragmium-Arten vorkommen sollten. Milesi und Traverso[2]), die in Unkenntnis darüber waren, daß Hedera Vahlii, Hedera stellata und Paratropia (Heptapleuron) therebinthacea dieselbe Art sind, sagten, daß die obigen beiden Triphragmium-Arten einander sehr nahe stehen und sich besonders durch die Zahl der Sporenstacheln (6—10; 10—18) voneinander unterscheiden.

Vergleicht man aber Exemplare von verschiedenen Standorten miteinander, so findet man, daß nicht nur die Zahl, sondern auch die Form der Stacheln sehr variabel ist. Zwei Exemplare aus Nordamerika (Rabenh.-Winter, Fungi europ. Nr. 2918 und Ellis et Everh., F. Columb. Nr. 177), ferner das Exemplar in F. rossiae exsic. Nr. 276 entsprechen vollkommen der Beschreibung von Tr. clavellosum bei Milesi und Traverso. Ein von mir bei Peradenyia gesammeltes Exemplar stimmt zwar im allgemeinen zu T. Thwaitesii, zeigt aber sehr häufig mehr als 10 Sporenstacheln, während das Exemplar in Raciborski, Crypt. paras. jav. Nr. 68, auf dem offenbar Milesis und Traversos Beschreibung beruht, gut zu ihrer Beschreibung von Tr. Thwaitesii stimmt. Doch zeigen hier die Sporen sehr häufig einfache, ungeteilte Stacheln.

Nun fand ich bei Tjibodas auf der Unterseite der Blätter der Araliacee Trevesia sundaica noch eine Form, mit stets einfachen 4—8 μ langen Sporenstacheln, die bald nur spärlich, bald zahlreich vor-

[1]) T. Petch, Annals of the Royal Botanic Gardens, Peradeniya, 1907, IV. Bd., II. Teil, S. 43.

[2]) Milesi und Traverso, Annales mycol., 1904, II. Bd., S. 154.

handen sind. Im übrigen stimmt diese Form mit dem Exemplare Raciborskis überein.

Man ersieht daraus, daß auf Araliaceen 4 verschiedene Formen vom Triphragmium vorkommen. Es scheint, daß sie alle nur zu einer sehr verbreiteten und daher sehr variablen Art gehören, was an reicherem Materiale noch näher festzustellen ist.

VII. Über Schroeteriaster Elettariae Racib.

Der Pilz ist von Raciborski[1]) eingehend beschrieben worden. Nach dieser Beschreibung entstehen die Teleutosporen in Ketten, welche durch Querteilungen zustande kommen. Die 2—4 basalen und jungen Teleutosporen bleiben in der Kette im Zusammenhange, die älteren, höher liegenden Sporen runden sich ab und werden frei. Sie sind farblos und keimen sofort im Sorus, indem sie zylindrische Basidien austreiben, welche 4 kugelige Basidiosporen bilden.

Das in Raciborski, Cryptog. parasit. javan. Nr. 61 ausgegebene Original-Exemplar von Schroeteriaster Elettariae wächst auf Elettaria speciosa Blume, welche aber nach K. Schumann[2]) keine Elettaria ist, sondern eine Phaeomeria, die Ph. magnifica (Roscoe) K. Schum. zu heißen hat. Daher ist der Species-Name „Elettariae" unglücklich gewählt.

Ich fand nun offenbar denselben Pilz, oder eine ganz nahestehende Form desselben 1907 im botanischen Garten von Buitenzorg auf Java, auf einer als Hornstedtia sp. bezeichneten Pflanze. Hornstedtia ist nun nach K. Schumann eine gute, artenreiche Gattung, sie steht aber der Gattung Phaeomeria sehr nahe und sind mehrere (4) Arten letzterer Gattung als Hornstedtia-Arten beschrieben worden. Es ist daher möglich, daß die Nährpflanze des von mir gefundenen Pilzes eigentlich auch eine Phaeomeria ist. Auf jeden Fall aber stehen sich die Nährpflanzen beider Pilze sehr nahe.

Der von mir gefundene Pilz zeigt noch unreife Teleutosporenlager, an welchen die reihenweise Entstehung der Sporen durch basipetale Teilungswände gut zu erkennen war. Raciborskis Angaben sind daher richtig.

Daraus ergibt sich aber, daß der Pilz nicht in die Gattung Schroeteriaster gehört. Diese ist eine Pucciniee, deren einzellige

[1]) M. Raciborski, Parasitische Algen und Pilze Javas, Batavia, 1900, II. Teil, S. 28.

[2]) K. Schumann in „Das Pflanzenreich" 20. Heft, (IV., 46) S. 262.

Teleutosporen nicht in Ketten entstehen und zu einem festen Lager miteinander verklebt sind[1]), während der vorliegende Pilz eine Melampsoree ist, mit in Ketten stehenden, einzelligen Sporen. Damit stimmt auch der Umstand überein, daß die Uredosporen keine Keimporen aufweisen. Unter den Melampsoreen kommen nur die beiden Gattungen Phacopsora und Klastopsora in Betracht.

Bei Phacopsora[2]) bleiben die Teleutosporen auch nach der Reife zu festen Massen vereinigt, während bei Klastopsora[3]) das Teleutosporenlager schließlich zerfällt und zerstäubt, ganz so wie bei dem in Rede stehenden Pilz.

Dieser hat daher Klastopsora Elettariae (Rac.) v. H. zu heißen. Bei der meines Wissens einzigen bisher bekannten Klastopsora-Art, Kl. Komarovii Diet. sind Uredosporen nicht bekannt, während die in Rede stehende zweite Art solche aufweist. Sowohl die Uredo- als auch die Teleutosporen-Lager zeigen hier keine Spur von Paraphysen oder Peridien, sind also völlig nackt. Nach den gemachten Angaben kann die Gattungsdiagnose von Klastopsora wie folgt ergänzt werden.

Klastopsora Dietel 1904.

Uredolagen ohne Hülle und Paraphysen, klein, lange bedeckt; Uredosporen feinstachlich, ohne Keimporen. Teleutosporenlager ebenso, wachsartig, zuletzt oben zerfallend und zerstäubend. Teleutosporen hyalin, einzellig, durch basipetale Querteilungen entstehend, in Ketten stehend; die oberen reifen sich abrundend und ablösend, noch im Sorus keimend, zylindrische Basidien und 4 rundliche Basidiosporen bildend.

Noch sei bemerkt, daß die Uredo-Sporen des Raciborskischen Exemplares von Klastopsora Elettariae hyaline, kurze und ziemlich locker stehende Stacheln zeigen, ganz so wie das von mir gesammelte, also nicht feinwarzig sind, wie Raciborski angibt.

---

[1]) P. Magnus, Berichte d. deutsch. bot. Gesellsch., 1896, XIV. Bd., S. 129.
[2]) P. Dietel, Hedwigia, 1898, 37. Bd., S. 217.
[3]) P. Dietel, Annales mycol., 1904, II. Bd., S. 24.

Über die Wirkung der Phosphate auf die Arbeit des proteolytischen Enzyms in der Hefe.

Von **Nicolaus Iwanoff.**

(Pflanzenphysiologisches Institut der Universität St. Petersburg.)

Wir müssen zweierlei Faktoren unterscheiden, die wir bei unseren Versuchen zur Erforschung der vitalen Vorgänge einführen. Erstens solche, welche zum regelmäßigen Verlauf des Vorgangs bekanntermaßen nicht notwendig sind (Gifte), und zweitens solche, die zu den notwendigen Lebensbedingungen gehören (Zucker, Phosphat).

Im ersten Falle wird ein Reiz ausgeübt, welcher die Zelle manchmal zu einer erhöhten Lebenstätigkeit anregen kann, worauf sehr bald eine Depression erfolgt; im zweiten Fall können notwendige Stoffe dennoch überflüssig, folglich auch schädlich erscheinen, und ihre Wirkung fängt erst nach dem Abtöten der Zelle an zur Geltung zu kommen, wenn die Arbeit der Fermente unkoordiniert verläuft, wobei ein Teil den anderen unterdrückt.

Deshalb können wir die Rolle der notwendigen Lebensfaktoren erfolgreicher an abgetöteten Pflanzen studieren.

In der vorliegenden Arbeit wird die Wirkung der Phosphate auf das proteolytische Enzym der abgetöteten Hefe — Hefanol — untersucht.

Die Phosphate spielen eine bedeutende Rolle in der Autoregulation der Lebensprozesse im Protoplasma. In Gegenwart von Neutralsalzen der anorganischen Säuren können die Phosphate nach Czapek[1]) kleine Mengen freier Mineralsäuren bilden. So entsteht beim Zusammenwirken von Na_2HPO_4 (auch NaH_2PO_4) mit NaCl — HCl[2]).

Die primären (sauren) Phosphate können in der Zelle in sekundäre (basische) übergehen (und umgekehrt) und die schädlichen Wirkungen der Säuren und Alkalien neutralisieren. So erklärte Wróblewski[3])

[1]) Czapek, Jahrb. f. wissensch. Bot. B. 29, S. 321.

[2]) Frederik und Newell, Lehrbuch der Physiologie des Menschen.

[3]) Wróblewski, Journ. f. prakt. Chemie Bd. 64, S. 1, 1901.

die Rolle der Phosphate, als er zum ersten Mal die stimulierende Wirkung des Na_2HPO_4 auf die CO_2-Ausscheidung des Hefepreßsaftes bemerkte. E. Buchner[1]), welcher dieselbe Erscheinung feststellte, schrieb sie der günstigen Wirkung der schwachen alkalischen Reaktion des Dinatriumphosphats zu. Später aber kam er angesichts neuer Tatsachen (günstige Wirkung des Kochsafts und Lecithins) zu dem Schluß, daß die Phosphorsäure als solche die CO_2-Ausscheidung stimuliert. Weitere Arbeiten von Harden und Young und L. A. Iwanow stellen die Notwendigkeit der Phosphorsäure für die Gärung fest[2]).

Etwas abseits von diesen Arbeiten steht eine Arbeit Lintners[3]). Der Verfasser behauptet, daß die Selbstgärung der Hefe (oder vielmehr ein Teil dieses Vorgangs, nämlich die Bildung von Alkohol und CO_2 auf Kosten des Glykogens) durch saures Phosphat stimuliert, durch basisches dagegen gehemmt wird.

Was die Autolyse der Hefe betrifft, so ist zunächst die Arbeit von Salkowski[4]) zu berücksichtigen. Letzterer zeigte, daß die Autolyse der Hefe in Chloroformwasser bei Zimmertemperatur unter Bildung von Zucker, Leucin, Tyrosin, Xantin verläuft, und daß dieser Vorgang ein enzymatischer ist, da er in sterilisierten Proben ausbleibt. Kutscher[5]) teilt den Autolysevorgang der Hefe (nach Béchamp und Schützenberger) in zwei Teile: 1. Bildung von Alkohol und CO_2 und 2. Bildung von Zerfallprodukten der Eiweißstoffe. Er untersuchte die Autolyse in Toluolwasser bei 38° C während 24—48 Stunden und zeigte, daß bei tryptischer Verdauung dieselben Zerfallprodukte wie auch unter der Einwirkung starker Säuren entstehen. Kutscher hält das proteolytische Enzym der Hefe mit dem Trypsin der warmblütigen Tiere für identisch und nimmt an, daß bei guter Ernährung das Hefetrypsin in der Hefe als Zymogen enthalten ist, welches beim Hungern in aktive Form übergeht. Im ersten Fall wirkt das Enzym synthetisch (indem es aus der Malzwürze das Hefeeiweiß bildet), im zweiten Falle — zersetzend.

Das proteolytische Enzym wirkt am besten in schwach sauren Medien. Windisch und Schellhorn[6]) geben an, daß der Zerfall im

[1]) Buchner, Die Zymasegärung, S. 141.

[2]) Die Phosphorsäure bildet mit Zucker eine Komplexverbindung, welche dann zersetzt wird.

[3]) Lintner, Studien über die Selbstgärung der Hefe. Centralbl. f. Bakt. **5**, 798, 1899.

[4]) E. Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chemie **13**, 506, 1899.

[5]) Kutscher, Zeitschr. f. physiol. Chemie **32**, 59, 1901.

[6]) W. Windisch und Schellhorn, Wochenschr. f. Brauerei, 1900, Nr. 24—29.

Malz besser in 0,2—0,4 % igen Lösungen organischer Säuren (Oxal-, Milch-, Essig-, Bernsteinsäure) vor sich geht. Weiß[1]) gibt für Mineralsäuren folgende Konzentrationen an: für H_2SO_4 0,05 %, für HCl 0,03 %.

Von anderen Abhandlungen über den Eiweißzerfall müssen diejenigen von Butkewitsch[2]), Zaleski[3]) und Kowschow[4]) genannt werden.

Die Arbeiten von Hahn und Geret[5]) zeigten, daß der Eiweißzerfall im Buchnerschen Preßsaft bei schwach saurer Reaktion verläuft und durch Alkalien gehemmt wird[6]).

Frl. Gromow[7]) zeigte am Zymin, daß KNO_3 und $CaCl_2$ die Arbeit der Endotryptase stimulieren, und Frl. Grigorjew[8]) wies nach, daß diese Stoffe die Zersetzung des Zuckers durch Zymase hemmen.

Dank diesen Arbeiten läßt sich eine Vorstellung vom Antagonismus der Zymase und Endotryptase gewinnen. Diesen Gedanken vertritt auch Frl. Petruschewsky[9]), welche zeigte, daß der Eiweißzerfall im Zymin besser bei 33—34° C als bei Zimmertemperatur vor sich geht, die CO_2-Ausscheidung bei der Autolyse des Zymins dagegen mit der Erhöhung der Temperatur erheblich fällt. Daraus schließt die Verfasserin, daß „das proteolytische Ferment die Zymase zerstört, und je stärker es arbeitet, desto vollständiger ist die Zerstörung".

Einen anderen Standpunkt vertritt L. Iwanoff[10]), welcher zu dem Schluß kommt, daß bei der alkoholischen Gärung ein Eiweißzerfall nicht stattfindet, weil die Hefezellen als Nebenprodukte der Gärung Aldehyde

---

[1]) Fr. Weiß, Zeitschr. f. physiol. Chemie **31**, 79, 1900.

[2]) Butkewitsch, Die regressive Metamorphose der Eiweißstoffe in höheren Pflanzen. Moskau 1901 (russisch).

[3]) W. Zaleski, Berichte deutsch. botan. Gesellsch. 1905, 138.

[4]) Kowschow, Botanisches Journal 1906, Nr. 5, S. 180 (russisch).

[5]) E. Buchner, Die Zymasegärung. 1903.

[6]) Die vor kurzem erschienene Arbeit E. Navassarts aus dem Laboratorium von Salkowski (Zeitschr. f. physiol. Chemie **70**, H. 2/3, S. 189) weist eine Hemmung des Eiweißzerfalls sowohl unter dem Einfluß von Na_2CO_3, als auch (im Gegensatz zu früheren Angaben) von HCl (0,0076 %—0,1374 %) nach.

[7]) T. Gromow, Arbeiten der naturf. Gesellsch. in St. Petersburg 35, I; Zeitschr. für physiol. Chemie **42**, 300, 1904.

[8]) O. Grigorjew, Zeitschr. für physiol. Chemie **42**, 300, 1904.

[9]) A. Petruschewsky, Arb. der St. Petersb. Naturf. Gesellsch. XXXVII, Heft 1 (russisch).

[10]) L. Iwanoff, Über die Umwandlung des Phosphors in der Pflanze im Zusammenhang mit dem Eiweißumsatz. St. Petersburg 1905 (russisch).

bilden, welche den zerstörenden Einfluß des proteolytischen Enzyms hemmen. Der Verfasser meint, daß „die Wirkung der antiproteolytischen Substanzen durch saure Phosphate beseitigt werden kann.“ Er führt einen Versuch an, in welchem Hefe, welche vorher ohne KH_2PO_4 gegoren hatte, einen schwächeren Eiweißzerfall als ungegorene, mit KH_2PO_4 gegorene dagegen einen stärkeren Eiweißzerfall ergab[1]).

Ich stellte mir die Aufgabe, diese Frage eingehender zu untersuchen und zu prüfen, ob die Wirkung des sauren Phosphats auf seiner sauren Reaktion beruht, inwiefern die Autolyse durch basisches und neutrales Phosphat beeinflußt wird, und ob die Wirkung des KH_2PO_4 von der Gärung abhängt. Außerdem sollte die Möglichkeit einer Regeneration des proteolytischen Ferments untersucht werden.

Die Versuchsanordnung bestand darin, daß Erlenmeyerkölbchen mit je 50 ccm Wasser und Phosphatlösung unter Zusatz von 1—2 ccm Toluol beschickt wurden. In jedes Kölbchen wurde ca. 1 g Hefanol (von Schroder in München) gebracht, die Kölbchen mit Pfropfen oder Watte verschlossen und von Zeit zu Zeit geschüttelt. Ein Teil der Kolben wurde bei Zimmertemperatur (17—18° C), der andere im Thermostaten bei 46—48° C und sogar 56° C gehalten. Das Eiweiß wurde nach Stutzer und der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. Die normalen und Phosphatportionen wurden in zwei Parallelversuchen angesetzt. In den Versuchsprotokollen führe ich weder die Hefanolmengen bis zu 0,1 mg, noch die Mengen des vorhandenen, zurückgebliebenen und zerfallenen Eiweißes, sondern nur diejenige Menge des zersetzten Eiweißes an, welche 100 mg des Eiweiß-N der betreffenden Portion entspricht.

Versuch 1.

Von 6 Hefanolportionen wurden 3 zur Bestimmung des Gesamtstickstoffs und die 3 anderen zur Bestimmung des Eiweißstickstoffs verwandt. Substanzmenge 2 g.

Portionen	Gesamt-N in % des trockenen Hefanols		Eiweiß-N in % der Trockensubstanz	
1	9,09	im Mittel 9,10	6,32	im Mittel 6,38
2	9,12		6,46	
3	9,08		6,36	

[1]) A. Fernbach und Hubert (Comptes rendus 131, 293, 1900) zeigten schon früher, daß primäre Phosphate die Autolyse des Malzextrakts fördern, die sekundären dieselbe hemmen.

Versuch 2.

12 Hefanolportionen (zu ca. 1 g) wurden in 50 ccm 1. Wasser, 2. 0,38 % KH_2PO_4-, 3. 1,52 % KH_2PO_4-Lösung gebracht, alle Proben mit je 2 ccm Toluol versetzt und für 43½ Stunden bei Zimmertemperatur und im Thermostat aufgestellt[1]).

	Temperatur 16—18 ° C		Temperatur 47—50 ° C	
	Eiweiß-N — zersetzt		Eiweiß-N — zersetzt	
	In mg des Eiweiß-N	In mg des Eiweiß-N im Mittel	In mg des Eiweiß-N	In mg des Eiweiß-N im Mittel
Wasser . . .	16,02 14,51	15,27	62,17 64,71	63,44
0,38 %[2]) KH_2PO_4	21,48 20,00	20,74	— 68,11	68,11
1,52 % KH_2PO_4	29,80 28,40	29,10	76,58 75,96	76,27

Das saure Phosphat verstärkt den Eiweißzerfall im direkten Verhältnis zur Konzentration des Salzes. Die Wirkung des KH_2PO_4 ist ungefähr ebenso stark[3]) sowohl bei der Autolyse mit alkoholischer Gärung (17—18 ° C) als auch dann, wenn die Gärung durch hohe Temperatur (47—50 ° C) ausgeschlossen ist (vergl. Versuch 14).

Versuch 3.

12 Portionen Hefanol zu 1,5 g wurden in Wasser und in 0,76 % KH_2PO_4 eingebracht. Flüssigkeitsvolum = 50 ccm. In jeder Portion waren 106,4 mg Eiweiß-N enthalten.

---

[1]) In den meisten Versuchen betrug die Menge des Eiweiß-N 106,4 mg (auf 1,5 g Hefanol).

[2]) 0,38 % KH_2PO_4 und 0,489 % K_2HPO_4 sind mit 1 % Na_2HPO_4 äquimolekular. Da ich zuerst auch mit Na_2HPO_4 arbeitete, berechnete ich dementsprechend die äquimolekularen Lösungen des KH_2PO_4 und K_2HPO_4.

[3]) 29,10 — 15,27 = 13,83 } für 1,52 % KH_2PO_4 und 20,74 — 15,27 = 5,47 } für 0,38 % KH_2PO_4
76,27 — 63,44 = 12,83 }   68,11 — 63,44 = 4,67 }
Wenn wir die Menge des Eiweiß-N in der Portion = 100 mg setzen, so können wir sagen, daß die Differenz zwischen der normalen und der Phosphatportion bei verschiedenen Temperaturen gleich groß ist.

Nr. der Portion		Temperatur °C	Eiweißzerfall in mg des Eiweiß-N	Differenz in mg
1—2	normal	18—19	24,9	9,8
3—4	Phosphat		34,7	
5—6	normal	32,1—32,5	67,3	8,4
7—8	Phosphat		75,7	
9—10	normal	54—56	65,2	8,1
11—12	Phosphat		73,4	

Obgleich die Autolyse bei Zimmertemperatur bedeutend geringer als bei höherer war, erwies sich die Differenz in mg in allen drei Fällen beinahe gleich. Es muß bemerkt werden, daß die Autolyse bei 32° C und bei 56° C dieselben Resultate ergab. Das Optimum der Fermentwirkung liegt bei ca. 44° C.

Versuch 4.

16 Portionen Hefanol zu 1,5 g. Normal in Wasser, Versuchsportion in 1,52 % KH_2PO_4. Toluol. Temperatur = 54—58° C.

Zeit vom Anfang des Versuchs in Stunden	Normal		1,52 % KH_2PO_4		Differenz zwischen der normalen und Phosphat-portion in mg
	N — zersetzt		N — zersetzt		
	In mg des Eiweiß-N	In mg des Eiweiß-N im Mittel	In mg des Eiweiß-N	In mg des Eiweiß-N im Mittel	
2	26,04	26,25	36,48	38,07	11,82
	26,47		39,46		
21	52,28	52,65	68,28	68,55	15,9
	53,01		68,83		
46	58,26	58,47	73,18	73,48	15,01
	58,68		73,84		
72	—	56,87	—	73,05	16,18
	56,87		73,05		

Die Differenz zwischen der normalen und Phosphat-Portion ist von 11,82 % auf 16 % gestiegen und nicht weiter gegangen. Nach 46 Stunden fand kein weiterer Zerfall statt, und die Phosphatportion behielt ihren Vorsprung vor der normalen um 16 mg.

Versuch 5.

12 Portionen Hefanol, jede zu ca. 1 g. 1. Wasser, 2. eine Mischung von äquimolekularen Lösungen von KH_2PO_4 (0,76 %) und K_2HPO_4 (0,979 %) (auf Lackmus neutralreagierend), 3. 0,979 % K_2HPO_4. Toluol. Versuchsdauer 20 Stunden.

	Temperatur = 17,3° C		Temperatur = 47° C	
	Eiweiß-N — zersetzt		Eiweiß-N — zersetzt	
	In mg des Eiweiß-N	In mg des Eiweiß-N im Mittel	In mg des Eiweiß-N	In mg des Eiweiß-N im Mittel
Wasser	—	12,17	60,87	61,96
	12,17		63,04	
0,98 % K_2HPO_4	12,74	12,94	65,43	64,81
0,76 % KH_2PO_4	13,14		64,20	
0,98 % K_2HPO_4	7,64	7,19	27,50	26,88
	6,74		26,26	

Eine auf Lackmus neutral reagierende Mischung von saurem und basischem Phosphat hat beinahe gar keine Wirkung auf die Eiweißzersetzung, so daß man die Wirkung des KH_2PO_4 in der sauren Reaktion dieses Salzes suchen muß.

Das basische Phosphat K_2HPO_4 hemmt die proteolytische Zersetzung, was bei höheren Temperaturen noch stärker hervortritt. Diese Tatsache kann darauf beruhen, daß bei Zimmertemperatur (17—18° C) alkoholische Gärung, folglich auch CO_2-Ausscheidung stattfindet, welche das basische K_2HPO_4 teilweise neutralisiert. Bei hoher Temperatur wird beinahe gar keine CO_2 ausgeschieden (Versuch 14), die Lösung bleibt alkalisch, und ihre Wirkung äußert sich in einer Hemmung der Tryptasetätigkeit.

Dann wandte ich mich der Frage zu, ob die Wirkung der Phosphate nicht einen prinzipiellen Unterschied in dem Falle aufweisen würde, wenn wir den Gärungsprozeß durch Saccharosezusatz verstärken. Um den Eiweißzerfall nicht zu sehr zu hemmen, nahm ich für meine Versuche 5 % Rohrzucker und nur in einem Versuche —. 10 %.

Versuch 6.

3 Portionen Hefanol zu 2 g wurden in 10 prozentiger Saccharose-Lösung in modifizierten Chudjakowschen Gärkolben zur Bestimmung der CO_2 eingebracht. Von Zeit zu Zeit wurde Toluol zugesetzt. Nach 92 Stunden wurde die Menge des zersetzten Eiweißes bestimmt. Temp. 17—18° C.

Portionen	Eiweiß zerfallen in %	CO_2 ausgeschieden in mg
10 % Saccharose	26,35	134,1
10 % Saccharose + K_2HPO_4 (0,98 %)[1]	22,61	134,1[2]
10 % Saccharose + KH_2PO_4 (0,76 %)[1]	33,58	124,5

Wir sehen also, daß die von früheren Autoren festgestellte umgekehrte Wirkung der Stoffe auf Zymase und Endotryptase auch für die Phosphate gilt[3]). Diese Wirkung kann durch folgendes Schema ausgedrückt werden:

	KH_2PO_4 (saure Reaktion)	K_2HPO_4 (alkalische Reaktion)	$K_2HPO_4 + KH_2PO_4$ (neutrale Reaktion)
Zymase	—	+	0[1])
Tryptase	+	—	0

Versuch 7.

12 Portionen Hefanol; 50 ccm 5prozentiger Saccharose. Toluol. Versuchsdauer 91,5 Stunden.

	Temp. = 17,5—18,5° C		Temperatur = 45—54° C	
	Eiweiß-N — zersetzt		Eiweiß-N — zersetzt	
	In mg des Eiweiß-N	In mg des Eiweiß-N im Mittel	In mg des Eiweiß-N	In mg des Eiweiß-N im Mittel
5 % Saccharose	30,64 30,96	30,85	70,66 69,09	69,87
5 % Saccharose + K_2HPO_4 (0,98 %)	29,32 30,37	29,84	— 32,37	32,37
5 % Saccharose + KH_2PO_4 (0,76 %)	37,18 —	37,18	76,28 76,06	76,17

Die Differenz zwischen der normalen und sauren Phosphatportion bleibt dieselbe (6,3 %), sowohl bei Zimmertemperatur als auch bei 45 bis 56° C. Dieselbe Erscheinung wurde auch bei der Autolyse in Wasser

[1]) 0,98 % K_2HPO_4 und 0,76 % KH_2PO_4 sind äquimolekular.

[2]) Die CO_2-Menge war nicht größer, aber wenn man die Absorption durch das K_2HPO_4 berücksichtigt, so ergibt sich ein Überschuß der CO_2.

[3]) S. Kostytschew und A. Scheloumow, Jahrb. f. wiss. Bot. 50, 157, 1911.

beobachtet. Der bedeutende Unterschied in der Wirkung des K_2HPO_4 beim Temperaturwechsel erklärt sich auch dadurch, daß bei 18° C CO_2 ausgeschieden wird, bei 56° C dagegen fast gar nicht. Hier ist diese Erscheinung noch klarer, weil aus Saccharose mehr CO_2 als in der Autolyse in Wasser ausgeschieden wird.

Versuch 8.

12 Portionen Hefanol. 50 ccm 5% Saccharose. Toluol. Versuchsdauer 20 Stunden.

	Temperatur = 18,5° C		Temperatur = 47° C	
	Eiweiß-N — zersetzt		Eiweiß-N — zersetzt	
	In mg des Eiweiß-N	In mg des Eiweiß-N im Mittel	In mg des Eiweiß-N	In mg des Eiweiß-N im Mittel
5% Saccharose	8,82 9,30	9,06	61,52 60,03	60,78
5% Saccharose + neutrale Mischung von 0,76% KH_2PO_4 und 0,98% K_2HPO_4	10,65 11,14	10,90	65,83 64,35	65,09
5% Saccharose + 0,98% K_2HPO_4	6,97 7,72	7,35	32,33 —	32,33

Versuch 9.

Wie Versuch 8, nur dauerte der Versuch 45 Stunden.

	Temperatur = 18,7° C		Temperatur = 46° C	
	N — zersetzt		N — zersetzt	
	In mg des Eiweiß-N	In mg des Eiweiß-N im Mittel	In mg des Eiweiß-N	In mg des Eiweiß-N im Mittel
5% Saccharose	— 15,89	15,89	68,91 69,15	69,03
5% Saccharose + neutrale Mischung von 0,76% KH_2PO_4 und 0,98% K_2HPO_4	19,10 19,21	19,16	68,31 72,16	70,24
5% Saccharose + 0,98% K_2HPO_4	12,98 —	12,98	44,58 47,73	46,16

Aus einigen Versuchen, besonders aus dem dritten, ersieht man, daß der Eiweißzerfall nur bis zu einer gewissen Grenze stattfindet, doch

ergibt die KH_2PO_4-Portion überall einen stärkeren Zerfall, welcher in der Normalportion trotz Verlängerung des Versuchs nicht erreicht wird. Vielleicht hat das zurückbleibende Eiweiß eine andere chemische Struktur, und wird von einem anderen Enzym angegriffen, doch ist es möglich, daß die Hemmung der Proteolyse durch die Zersetzungsprodukte der Eiweißstoffe verursacht wird. Kutscher betrachtet den proteolytischen Zerfall als eine umkehrbare Reaktion und die Endotryptase als ein Enzym, welches die Reaktion je nach den Ernährungsbedingungen der Hefe nach beiden Richtungen führen kann.

Die Frage nach der Wirkung der Zerfallprodukte hat auch Frl. Gromow in ihrer oben erwähnten Arbeit berührt. In einem Falle ließ sie das Zymin in 20 ccm Wasser, im anderen Fall in einer breiartigen Masse zerfallen, und sah im letzteren Falle einen geringeren Zerfall als im ersten.

Diese Versuchsanstellung ist nicht einwandfrei. Die Hemmung des Eiweißzerfalls bei der Autolyse könnte nicht durch die Anhäufung der Spaltungsprodukte, sondern durch Mangel des für die chemische und physiologische Reaktion notwendigen Wassers verursacht werden. Ich wandte mich deshalb der Untersuchung der Wirkung zu, welche eine Einschränkung der Wasserzufuhr auf die Autolyse ausübt.

Versuch 10.

16 Portionen Hefanol[1]) zu 1,5 g wurden für 30 Stunden der Autolyse unterworfen. Toluol. Die Portion enthielt 106,4 mg Eiweiß-N.

Nr.		Temp. °C	Eiweißzerfall in mg Eiweiß-N	Differenz zwischen der normalen und Phosphatportion in mg
1—2	10 ccm[2]) Wasser	40—42	81,3	5,0
3—4	10 ccm Wasser + 0,38 g KH_2PO_4		86,3	
5—6	100 ccm Wasser		79,1	5,5
7—8	100 ccm Wasser + 0,38 g KH_2PO_4		84,6	
9—10	10 ccm Wasser	18—19	32,5	5,6
11—12	10 ccm Wasser + 0,38 g KH_2PO_4		38,1	
13—14	100 ccm Wasser		27,0	6,6
15—16	100 ccm Wasser + 0,38 g KH_2PO_4		33,6	

[1]) Die zersetzten Mengen in den Versuchen 10, 11 und den anderen lassen sich nicht direkt vergleichen, da das Hefanol von verschiedenen Jahrgängen stammte.

[2]) Bei 10 ccm Wasser wird das Hefanol nur befeuchtet und bildet eine breiartige Masse.

Das Verdünnen des Mediums von 10 auf 100 ccm hatte einen schädlichen Einfluß auf den Eiweißzerfall. Es ist klar, daß hier zwei Faktoren beteiligt sind: einerseits die sich anhäufenden Produkte, welche im verdünnten Medium den Zerfall weniger hemmen müssen, andrerseits die Verlangsamung der Fermentarbeit in einem großen Flüssigkeitsvolum. Der letztere Umstand hebt die günstige Wirkung des ersten auf. Wichtig ist es auch, daß die Differenz zwischen den normalen und Phosphatportionen auch unter verschiedenen Bedingungen zum Ausdruck kommt.

Die Annahme, daß die Spaltungsprodukte den weiteren Eiweißzerfall hemmen, und daß die Rolle des sauren Phosphats in einer Neutralisation dieser Produkte besteht, mußte auf ihre Richtigkeit geprüft werden. Zu diesem Zwecke wurde die Wirkung des Tyrosins, Leucins und der aus dem Hefanol erhaltenen Spaltungsprodukte auf die Autolyse untersucht.

Versuch 11.

8 Portionen Hefanol zu 1,5 g. Toluol. Versuchsdauer 70 Stunden. Temperatur 42,5° C.

Nr.		Eiweißzerfall in mg Eiweiß-N	Differenz zwischen der normalen und Phosphatportion in mg
1—2	100 ccm Wasser	74,7	8,4
3—4	100 ccm Wasser + 0,76 g KH_2PO_4	83,1	
5—6	100 ccm Wasser + 0,1 g Tyrosin	74,0 [1]	8,1
7—8	100 ccm Wasser + 0,1 g Tyrosin + 0,76 g KH_2PO_4	82,1 [1]	

Zu demselben Resultat führte auch ein Versuch mit 0,5 % Leucin. Die bei der Autolyse entstehenden Aminosäuren — Leucin und Tyrosin — haben also auf die Autolyse keine hemmende Wirkung. Diaminosäuren — Arginin und Histidin — standen mir nicht zur Verfügung, und ich nahm deshalb zur Herstellung der Autolyseprodukte aus Hefanol meine Zuflucht.

---

[1]) Die Zahlen sind korrigiert: es wurde eigentlich um 2,1 mg mehr erhalten, aber es mußte das ungelöste Tyrosin in Betracht gezogen werden. In der Kontrollportion war der N-Gehalt des Tyrosins = 2,1 mg.

Versuch 12.

8 Portionen Hefanol zu 1,5 g. I — Wasser, II — 1,52 % KH_2PO_4, III — Zerfallprodukte[1]), IV — Zerfallprodukte + 1,52 % KH_2PO_4. Temperatur 56—58° C. Versuchsdauer 40 Stunden.

Nr.	Eiweiß-N der Portion in mg	Behandlung	NaOH zur Neutralisation d. Rückstands gebraucht (in ccm)	Eiweiß-N zersetzt in mg	Differenz in mg
I	95,26	50 ccm Wasser	60,8	42,39	18,48
II			61,85		
III		50 ccm 1,52 % KH_2PO_4	75,65	60,87	
IV			73,4		
V	113,11 mg (95,26 mg im Hefanol und 17,85 mg in den zugesetzten Produkten)	50 ccm Zerfallprodukte	46,4	38,78	24,01
VI			45,6		
VII		50 ccm Zerfallprod. + 1,52 % KH_2PO_4	63,2	62,79	
VIII			63,1		

Versuch 13.

8 Portionen Hefanol zu 1,5 g. I — Wasser, II — 3,04 % KH_2PO_4, III — Autolyseprodukte[2]), IV — Autolyseprodukte + 3,04 % KH_2PO_4. Toluol. Temperatur 56° C. Versuchsdauer 47 Stunden.

Nr.	Eiweiß-N der Portion in mg	Behandlung	NaOH zur Neutralisation d. Rückstands gebraucht (in ccm)	Eiweiß-N zersetzt in mg	Differenz in mg
I	95,26	50 ccm Wasser	61,7	43,89	17,71
II			63,2		
III		50 ccm 3,04 % KH_2PO_4	75,9	61,6	
IV			74,2		
V	119,33 mg (95,25 mg im Hefanol und 24,07 mg in den zugesetzten Produkten)	50 ccm gekochte Autolyseprodukte	—	42,19	26,11
VI			36,4		
VII		50 ccm gekochte Autolyseprodukte + 1,52 % KH_2PO_4	63,7	68,3	
VIII			61,7		

[1]) 12 g Hefanol wurden in 500 ccm Wasser bei 56—58° C mit Toluolzusatz gehalten. Nach 90 Stunden, nachdem das Eiweiß zerfallen war, wurde die gelbe Flüssigkeit abfiltriert und je 50 ccm davon zu den Versuchsportionen zugesetzt. In zwei Fällen wurde der zurückgebliebene Eiweiß-N in 50 ccm dieser Produkte bestimmt. Es wurde gefunden I — 18,5 mg, II — 17,5 mg (Mittel 17,85 mg).

[2]) 50 g Hefanol wurden mit Toluol in 500 ccm Wasser bei 52—54° C gehalten, nach 44 Stunden abfiltriert und wieder 21 Stunden bei 53° C autolysiert. Gekocht,

Die Autolyseprodukte haben also den Eiweißzerfall gehemmt, und diese Hemmung kann man nicht irgendwelchen von der Hefe erzeugten Antifermenten zuschreiben, da die gekochten Produkte dasselbe Resultat wie die ungekochten ergaben. Alkohol ist in den Autolyseprodukten nicht vorhanden[1]), da die Gärung bei 48—54° C ausbleibt (vergl. Versuch 11); Tyrosin und Leucin hemmen den weiteren Eiweißzerfall nicht. Wahrscheinlich hängt die Hemmung von den Hexonbasen (Arginin, Hystidin) ab, deren alkalische Reaktion das KH_2PO_4 neutralisiert.

Obgleich in den Portionen mit den Autolyseprodukten mehr Eiweiß vorhanden war, fand in denselben eine stärkere Eiweißzersetzung als in den Wasserportionen statt (ohne Phosphat). Der Phosphatzusatz hat dabei eine erhöhte Wirkung, wie aus den Versuchen 12 und 13 zu ersehen ist[2]).

Versuch 12		Versuch 13	
Wasser Differenz zwischen norm. u. Phosphatp. in mg	Autolyseprodukte Differenz zwischen norm. u. Phosphatp. in mg	Wasser Differenz zwischen norm. u. Phosphatp. in mg	Autolyseprodukte Differenz zwischen norm. u. Phosphatp. in mg
60,87	62,78	61,59	68,30
42,39	38,77	43,88	42,19
18,48	24,01	17,71	26,11

Zu dem gleichen Schluß kommen wir, wenn wir die Resultate des Versuchs 4 betrachten. Hier hatte die Wirkung der Phosphate nach 2 Stunden den Zerfall um 11,82 mg erhöht; zu dieser Zeit hatte die Autolyse noch nicht ihre gewöhnliche Grenze erreicht, und erst nach 21, 46, 72 Stunden überholte die Phosphatportion die anderen um einen konstanten Betrag — 16 mg.

Um zu zeigen, daß die Wirkung des KH_2PO_4 von der Gärung unabhängig sei, mußte ich nachweisen, daß bei 48—56° C die Gärung entweder stark gehemmt wird oder ganz stillsteht. Die Gärungsenergie untersuchte ich durch pyknometrische Bestimmung des gebildeten Alkohols.

---

wieder abfiltriert. Die erhaltene gelbe Flüssigkeit wurde zum Versuch verwendet. In 2 Portionen wurde der Eiweiß-N bestimmt: I — 27,84 mg, II — 23,30 mg (Mittel 24,07 mg).

[1]) Alkohol hemmt nach Gromow den Eiweißzerfall.

[2]) Es ist bemerkenswert, daß die Verdoppelung der Phosphatkonzentration von 1,52 auf 3,04 % den Zerfall beinahe gar nicht verändert hat.

Versuch 14.

4 Portionen Hefanol zu 40 g wurden in Kolben mit Toluolzusatz in 250 ccm Wasser und in 5 prozentiger Saccharose-Lösung verteilt. Temperatur 17—18° C und 55° C. Nach 44 Stunden wurde der Alkohol abfiltriert.

I	Im Wasser;	Temp. 56° C;	Alkohol 97,0 mg.
II	Im Wasser;	„ 18° C;	„ 445,8 mg.
III	In 5 proz. Saccharose-Lösung;	„ 56° C;	„ 510,0 mg.
IV	In 5 proz. Saccharose-Lösung;	„ 18° C;	„ 3288,0 mg.

Nachdem die Hemmung der Eiweißzersetzung durch den Zusatz von Autolyseprodukten festgestellt war, beschloß ich, zu den autolysierenden Portionen Hefanol-Extrakt zuzusetzen. Ich hatte die Absicht, die Wirkung dieses Zusatzes auf den Zerfallprozeß zu untersuchen und die Bedeutung des KH_2PO_4 für denselben zu prüfen.

Versuch 15.

12 Portionen Hefanol zu 1,5 g; 4 Portionen (1—4) in Wasser (50 ccm) und 1,52 % KH_2PO_4, jede von den übrigen 4 Portionen (9—12) wurde 1/2 Stunde in 50 ccm Wasser gehalten und die gelbliche Flüssigkeit abfiltriert und zu den 4 frischen Hefanolportionen (5—8) zugesetzt. Zu den Portionen 9—12, von denen das Filtrat genommen war, wurden 50 ccm Wasser zugesetzt. Der Versuch dauerte 70 Stunden. Temperatur 52—56° C. — Toluol. — Der Eiweiß-N in den abfiltrierten Flüssigkeitsproben wurde auf 11,95 mg bestimmt.

NN	Behandlung	Eiweiß-N der Portion in mg	Eiweiß-N zersetzt in mg	Differenz in mg
1—2 3—4	50 ccm Wasser 50 ccm 1,52 % KH_2PO_4	106,4	61,6 71,7	10,1
5—6 7—8	50 ccm Hefanolextrakt 50 ccm Hefanolextrakt + 0,76 [1]) g KH_2PO_4	118,3 (106,4 mg in Hef. + 11,9 in Hefanolextrakt)	48,8 79,6	30,8
9—10 11—12	50 ccm Wasser mit Hefanol ohne Hefanolextrakt Dasselbe + 0,76 [1]) g KH_2PO_4	94,5 (106,4 mg in Hef. — 11,9 in Hefanolextrakt)	47,3 55,2	7,9

Der Zusatz von Hefanolextrakt hemmte den Zerfall in Portion 5—6, in den Phosphatportionen dagegen war trotz Extraktzusatz der Zerfall

[1]) Das entspricht 1,52 % KH_2PO_4.

größer als in Portion 3—4. Die Differenz zwischen der Wasser- und Phosphatportion beträgt 10 mg; in denjenigen Fällen, wo Hefanolextrakt zugefügt war, steigt diese Differenz auf 30,8 mg. Dieser Vergleich scheint dafür zu sprechen, daß der Hefanolauszug gewisse Stoffe enthält, die der Arbeit des proteolytischen Ferments entgegenwirken, und daß die Rolle des KH_2PO_4 in der Neutralisation dieser Wirkung besteht. Ich beschloß aber zu untersuchen, ob die im Auszug selbst enthaltenen Eiweißkörper nicht zerfallen würden. A. v. Lebedew[1]) zeigte, daß der Auszug aus trockner Hefe gut wirkende Zymase enthält, und deshalb war es nicht unwahrscheinlich, daß der Auszug auch ein proteolytisches Ferment enthalten würde.

Versuch 16.

20 g Hefanol wurden mit 200 ccm Wasser 1/2 Stunde stehen gelassen; der Niederschlag wurde abgesaugt. Es wurden 150 ccm einer gelblichen, klaren Flüssigkeit erhalten, welche in 3 Portionen zu 50 ccm geteilt wurde. In der ersten wurde der Eiweiß-N bestimmt: 40,7 mg; die zweite und dritte wurden bei 32—33° C 69 Stunden autolysiert, wobei zur dritten Portion 0,76 g KH_2PO_4 zugesetzt wurde. Die Analyse ergab folgende Zahlen:

	Eiweiß-N der Portion in mg	Zersetzt — N in mg	Differenz in mg	Zersetzt — N in %	Differenz in %
Normale	40,7	22,6	2,6	55,5	6,4
Phosphate		25,2		61,9	

Der Hefanolauszug enthält ein proteolytisches Enzym, welches außerhalb der Zelle wirkt und nicht als Endotryptase bezeichnet werden kann.

Der Versuch wurde bei höherer Temperatur wiederholt.

Versuch 17.

50 g Hefanol 1/4 Stunde mit 600 ccm Wasser stehen gelassen. 300 ccm einer klaren, gelblichen Flüssigkeit abgesaugt, welche in 6 Portionen zu 50 ccm geteilt wurde. In 1—2 wurde der Eiweiß-N bestimmt, die übrigen der Autolyse während 61 Stunden bei 44° C unterworfen. Dabei wurde zu den 2 letzten Portionen (5—6) je 1,52% KH_2PO_4 zugesetzt.

[1]) A. v. Lebedew, Zeitschr. f. physiol. Chem. **73**, 447.

	Eiweiß-N der Portion in mg	N — zersetzt in mg	Differenz in mg	N — zersetzt in %	Differenz in %
Normale	66,7	21,6	20,5	32,4	31,6
Phosphate		42,1		63,0	

Der Unterschied zwischen den normalen und den Phosphatportionen war schon vor der Analyse bemerkbar. In der normalen war ein Niederschlag von koaguliertem Eiweiß zu sehen, die Phosphatprobe blieb dagegen hell. Der Vergleich der beiden oben beschriebenen Versuche zeigt, daß beim Erwärmen in der normalen Portion eine Gerinnung der Eiweißkörper und infolgedessen eine bedeutende Hemmung des Zerfalls stattfindet. Der Zusatz von Phosphat hebt diese Hemmung auf und erhöht den Eiweißzerfall auf 63 %.

Versuch 18.

30 g Hefanol wurde ½ Stunde in 300 g Wasser stehen gelassen. Nach Absaugen wurde das Filtrat mit Wasser auf 500 ccm verdünnt und in 10 Portionen geteilt. In zweien wurde der Eiweißstickstoff bestimmt, und die anderen 8—12 Stunden lang autolysiert. — Toluol. — Der Eiweiß-N jeder Portion = 33,57 mg.

Nr.	Behandlung	T	N — zersetzt in mg des Eiweiß-N	Differenz in mg	N — zersetzt in %	Differenz in %
1—2	50 ccm Hefanol-extrakt	32° C	18,2	3,4	54,3	10,2
3—4	Dasselbe + 0,75 g KH_2PO_4		21,6		64,5	
5—6	50 ccm Hefanol-extrakt	54° C	12,9	9,0	38,5	26,6
7—8	Dasselbe + 0,75 g KH_2PO_4		21,9		65,1	

Die 5. und 6. Portion enthielten am Ende des Versuchs einen Niederschlag von geronnenem Eiweiß. Alle übrigen Portionen blieben klar. Wenn wir die Resultate dieses Versuchs und der beiden vorhergehenden zur Erklärung des Versuchs 15 heranziehen, so müssen wir sagen, daß die durch den Zusatz des Hefanolauszugs erzeugte Hemmung nicht durch die darin enthaltenen antiproteolytischen Stoffe, sondern durch Koagulation der Eiweißstoffe bei 52—56° C bedingt ist. Diese Koagulation wird durch saure Phosphate aufgehoben, wie aus den beiden

letzten Versuchen hervorgeht. Der Zusatz der Autolyseprodukte (Vers. 12 und 13) hat auf den Zerfallprozeß nur eine sehr geringe Wirkung. Es schien mir deshalb wichtig zu untersuchen, welche Autolyseprodukte durch die Wirkung des KH_2PO_4 vermehrt werden. Zuerst war es aber notwendig zu prüfen, ob dem Hefanol durch Wasser seine proteolytischen Eigenschaften entzogen werden können.

Versuch 19.

2 Portionen Hefanol zu 3 g wurden 1/4 Stunde mit 100 ccm Wasser digeriert. Dann wurde auf der Nutsche abgesaugt und mit 150 ccm Wasser nachgewaschen. Im Filtrat wurde der Eiweiß-N bestimmt und die Niederschläge mit den Filtern der Autolyse überlassen: 1) 100 ccm Wasser, 2) 100 ccm 1,5 % KH_2PO_4. T 50—54° C. Der Versuch dauerte 53 Stunden.

	Eiweiß-N der Portion in mg	N-Zersetzung des Eiweiß-N in mg	N-Zersetzung in %
Normale	169,6	103,2	60,85
Phosphate	171,5	114,0	66,47

Das Wasser extrahiert also nicht das gesamte proteolytische Enzym. Es bleibt ein sehr aktiver Teil zurück, dessen Tätigkeit ebenfalls durch das KH_2PO_4 gesteigert wird. Vines[1]) unterscheidet ebenfalls eine Endo- und Ektopeptase. Er extrahierte[2]) aber aus seinen Objekten Peptase und Ereptase mit 2 % NaCl, in meinen Versuchen genügte schon Wasser, um das proteolytische Enzym zu extrahieren.

Versuch 20.

Es wurden 2 Portionen Hefanol zu 2 g mit Toluolzusatz 67 Stunden bei 52—58° C gehalten. Mit $Cu(OH)_2$ gefällt, filtriert und das Filtrat mit Phosphorwolframsäure gefällt. Der Eiweiß-N der Portion = 417,6 mg.

Portion	$Cu(OH)_2$-Niederschlag in mg des Eiweiß-N	Phosph. Wolframsäure-Niederschlag in mg des Eiweiß-N	Gesamtmenge der Niederschläge in mg
100 ccm Wasser	145,7	131,1	276,8
100 ccm 1 % KH_2PO_4	118,9	163,2	282,1

[1]) Vines, The proteases of plants, Annals of Botany, **23**, 1, 1909.
[2]) Vines, The proteases of plants, Ann. of Bot., **24**, 1910.

Der Phosphorwolframsäure-Niederschlag war also in der Phosphatportion um denselben Betrag größer, um welchen der $Cu(OH)_2$-Niederschlag geringer war. Die überschüssigen Produkte der Phosphatportion werden also durch Phosphorwolframsäure gefällt und es blieb nur aufzuklären, ob dieser Überschuß aus Diamidosäuren oder Albumosen und Peptonen besteht. In den Arbeiten von Butkewitsch und Godlewski[1]) finden wir den Nachweis, daß im sauren Medium die Menge der Diamidosäuren größer wird.

Versuch 21.

2 Portionen Hefanol zu 6 g. T. 18—19° C. 14 Tage. Toluol wurde von Zeit zu Zeit zugesetzt und die Kolben jeden Tag geschüttelt. Zuerst wurde mit $Cu(OH)_2$ gefällt, dann wurden aus dem Filtrat mit essigsaurem Blei die Peptone abgeschieden.

Portion	$Cu(OH)_2$-Niederschlag in mg des Eiweiß-N	Bleiessig-Niederschlag in mg des Eiweiß-N	Gesamtmenge der Niederschläge in mg
100 ccm Wasser	170,2	18,4	188,6
100 ccm 1% KH_2PO_4	145,0	40,8	185,8

Die Analyse zeigt, daß in der Phosphatportion beim Eiweißzerfall ein Überschuß von mit $Cu(OH)_2$ nicht fällbaren Produkten entstanden ist. Dieser durch essigsaures Blei fällbare Überschuß bezieht sich auf Pepton.

Wenn wir also mit Vines[2]) das proteolytische Enzym aus Peptase und Ereptase bestehend betrachten, so müssen wir annehmen, daß die saure Reaktion des KH_2PO_4 die Tätigkeit der Peptase fördert und eine Ansammlung von Peptonen hervorruft. Es ist natürlich möglich, daß die Endprodukte der Autolyse durch KH_2PO_4 modifiziert werden, doch bedarf diese Annahme noch weiterer Untersuchungen. Vines[3]) sagt: „Ansäuerung der Flüssigkeit erhöht die peptonisierende und peptolysierende Kraft der Proteasen, während Alkalien sie verzögern".

[1]) Godlewski, Bull. de l'Acad. de Crakowie. Okt. 1911, S. 713.

[2]) Vines, a. a. O., 1909.

[3]) Vines, a. a. O., 1910.

Zur Frage nach der Regeneration des proteolytischen Enzyms.

Bei den Autolyseversuchen bei 58° C beschloß ich, die Versuchsportionen vor der Autolyse unter Phosphatzusatz zu erhitzen, um die Temperatur zu erreichen, bei welcher das Enzym seine Wirksamkeit einbüßt. Bei diesen Versuchen konnte ich eine Regeneration des durch Erhitzen inaktivierten proteolytischen Ferments feststellen. Eine Regeneration der Fermente wurde auch früher beobachtet. M. Gramenitzki[1]) stellte fest, daß eine wässerige Lösung der Taka-Diastase beim Erhitzen ihre fermentativen Eigenschaften verliert, daß aber nachträglich eine Regeneration des Ferments stattfindet. Kulpson[2]) zeigte, daß Peroxydase und Oxydase aus Rettich, welche ihre oxydativen Eigenschaften beim Erhitzen verlieren, dieselben beim Stehen an der Luft wiedererlangen. A. Richter[3]) bearbeitete Hefe mit Toluol, Phenol, Chloroform und erhielt tote Zellen, welche keine CO_2 mehr ausschieden. Doch nach einer erneuten Behandlung mit Azeton und Äther begann die Hefe wieder CO_2 auszuscheiden. Die CO_2-Menge war nicht groß, doch fand in diesen Versuchen zweifellos eine Regeneration der Zymase statt, deren Tätigkeit früher vom lebenden Protoplasma unzertrennlich gehalten wurde.

Versuch 22.

4 Portionen Hefanol zu 1,5 g in Wasser (25 ccm) und 1,52 % KH_2PO_4 wurden in Kölbchen, welche in kochendes Wasser getaucht waren, 1¾—2 Minuten erhitzt, bis das in den Versuchskolben befindliche Thermometer 80° C zeigte. Überall wurde Toluol zugesetzt. Die Portionen wurden 20 Stunden bei 58—60° C gelassen. Der Eiweiß-N = 106,4 mg.

Nr.	Portion	N-Zersetzung in mg des Eiweiß-N
1—2	25 ccm Wasser	0
3—4	Dasselbe + 0,38 g KH_2PO_4	5,9

[1]) M. Gramenitzki, Der Einfluß verschiedener Temperaturen auf die Fermente. St. Petersburg, 1910.

[2]) Kulpson, Beiträge zur Kenntnis der phys.-chem. Eigenschaften der Oxydasen, 1908.

[3]) A. Richter, Zur Frage nach der Regeneration der Enzyme, Nachr. der Akad. der Wissensch., St. Petersburg, 1911, S. 813.

Das Erhitzen auf 80° C vernichtete die Arbeit des proteolytischen Ferments; der Zusatz von KH_2PO_4 stellte die Wirksamkeit des Ferments wieder her.

Dann wurde die Frage untersucht, ob der Zusatz eines kolloidalen Stoffes eine schützende Wirkung ausübt. Schmidt[1]) stellte fest, daß Pepton und Gelatine eine derartige Wirkung ausüben, indem sie das Trypsin bei 100° C vor der Zerstörung schützen.

Versuch 23.

4 Portionen Hefanol zu 1,5 g. Je 25 ccm Hefanolauszug (18,4 mg Eiweiß-N enthaltend) zu jeder Portion zugesetzt. Wie im vorigen Versuch, auf 80° C erhitzt. 20 Stunden. T. 58—60° C.

Nr.	Portion	N — zersetzt in mg des Eiweiß-N
1—2	25 ccm Hefanolextrakt	0
3—4	Dasselbe + 0,38 g KH_2PO_4	6,2

Die Resultate dieses Versuches stimmen mit dem vorigen überein. KH_2PO_4 hat dieselbe Wirkung und die eiweißhaltigen Autolyseprodukte[2]) üben wiederum keine Schutzwirkung aus. Doch ließen die beiden oben beschriebenen Versuche folgende Zweifel aufkommen: 1) vielleicht begünstigte die saure Reaktion des KH_2PO_4 während des Erhitzens auf 80° C die hydrolytische Spaltung des Eiweißes und 2) konnte die Hydrolyse wenn nicht während des Erhitzens, so doch während des Versuchs vor sich gehen. Gegen die erste Annahme sprechen die Resultate des folgenden Versuchs: Es wurden 4 Portionen zu 1,5 g Hefanol genommen; 2 in Wasser und 2 in 1,52% KH_2PO_4-Lösung auf 80° C erwärmt und mit $Cu(OH)_2$ gefällt. Die Menge des Eiweiß-N war in allen 4 Portionen gleich. Der zweite Einwand fällt nach folgendem Versuch:

Versuch 24.

14 Portionen Hefanol zu 1,5 g wurden 27 Stunden bei 51—54° C gehalten. Toluol. Vorher wurden die Proben entweder auf 75° C oder leicht aufgekocht.

---

[1]) E. W. Schmidt, Zeitschr. für physiol. Chem., **57**.

[2]) Zu negativen Resultaten gelangte ich beim Zusatz von Stärke als Schutzstoff.

Nr. der Portion	Behandlung	Eiweißzerfall in mg des Eiweiß-N
1—2	Erhitzt in 50 ccm Wasser auf 75° C[1]).	0
3—4	Ebenso, aber 0,75 g KH_2PO_4 vor dem Erhitzen zugesetzt.	21,3
5—6	Ebenso, aber 0,75 g KH_2PO_4 nach dem Erhitzen und Abkühlen zugesetzt.	21,3
7—8	Erhitzt in 50 ccm Wasser bis zum Kochen.	0
9—10	Ebenso, aber vor dem Kochen 0,75 g KH_2PO_4 zugesetzt.	3,2[2])
11—12	Ebenso, aber 0,75 g KH_2PO_4 nach dem Kochen und Abkühlen zugesetzt.	5,1[2]) 1,6
13—14	Hefanol in stark kochendes Wasser geschüttet und 2 Minuten auf dem Drahtnetz gekocht. Dann abgekühlt und 0,75 g KH_2PO_4 zugesetzt.	0

Aus diesem Versuch ist zu ersehen, daß das Eiweiß nicht durch das KH_2PO_4 während des Kochens zersetzt wird, da auch nachträglicher Zusatz nach dem Abkühlen dieselbe Wirkung hat. Die Wirkung des KH_2PO_4 äußert sich in der Wiederherstellung der fermentativen Eigenschaften der Protease, weil in Portion 13—14 nach starkem Kochen das KH_2PO_4 keinen Eiweißzerfall hervorrufen konnte.

Um ganz einwandfrei zu beweisen, daß die Wirkung des KH_2PO_4 keine hydrolysierende ist, stellte ich einen Versuch mit Konglutin (aus Samen der gelben Lupine) an.

Versuch 25.

2 Portionen Konglutin wurden für 24 Stunden 1) in 50 ccm Wasser, 2) in 2 % KH_2PO_4 eingebracht. T. 50° C. Mit $Cu(OH)_2$ gefällt und der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt.

---

[1]) Das Hefanol wurde in Kölbchen mit 50 ccm Wasser geschüttet und dann das Kölbchen in kochendes Wasser getaucht und so lange darin gelassen, bis das Thermometer im Kolben auf 75° C stieg, was nach 1¾—2 Minuten der Fall war.

[2]) Die Schwankungen in den Parallelversuchen erklären sich aus den nicht ganz gleichen Zeiträumen beim Erhitzen bis zum Aufkochen.

Portion	Gewicht in g	Eiweiß-N in mg	Eiweiß-N in %
50 ccm Wasser	1,5783	253,0	16,03
50 cm 2% KH_2PO_4	1,6281	260,67	16,01

Die Gegenwart von KH_2PO_4 übte gar keine Wirkung auf die Menge des Eiweiß-N aus. Damit stimmen die Beobachtungen von stud. W. Alexandrow (in unserem Laboratorium) überein. Beim Zusatz von KH_2PO_4 zu gemahlenen Erbsensamen konnte er keinen Eiweißzerfall konstatieren, welcher stattfinden müßte, wenn KH_2PO_4 die Eiweißstoffe hydrolysieren würde.

Es blieb noch klarzulegen, welche Zerfallprodukte bei der Regeneration des proteolytischen Ferments des Hefanols entstehen.

Versuch 26.

4 Portionen Hefanol zu 1,5 g wurden in Kolben mit 50 ccm Wasser gebracht, dann die Kolben in kochendes Wasser getaucht, bis die Temperatur des Kolbeninhalts 75° C erreichte. Dann wurden die Proben der Autolyse ausgesetzt, wobei zu zweien derselben nach dem Erkalten je 1 g KH_2PO_4 zugesetzt wurde — Toluol. T. 52°—54° C (einige Stunden sogar bis 65° C). Mit $Cu(OH)_2$, dann noch mit essigsaurem Blei gefällt.

Portion	$Cu(OH)_2$-Niederschlag	Essigsaurer Blei-Niederschlag	Gesamtmenge der Niederschläge
1 } 50 ccm Wasser	108,0	2,76	110,76
2 } 50 ccm Wasser	109,8	2,26	112,43
3 } 50 ccm 2% KH_2PO_4	100,37	—	—
4 } 50 ccm 2% KH_2PO_4	100,37	12,18	112,55

Die bei der Regeneration des proteolytischen Ferments entstehenden Produkte werden durch essigsaures Blei gefällt, gehören also zu den Peptonen. Meine Versuche sprechen also für die Regeneration der Peptase unter dem Einfluß von KH_2PO_4.

Zusammenfassung.

1. KH_2PO_4 steigert die Arbeit des proteolytischen Ferments im Hefanol (Vers. 2).

2. Die Zerfallbeschleunigung nähert sich einer gewissen konstanten Größe für eine bestimmte Menge Eiweiß und KH_2PO_4 und ist von der

Temperatur unabhängig, d. h. sie findet sowohl bei der Gärung als auch beim Ausschluß derselben statt (Vers. 2, 3, 14).

3. K_2HPO_4 hemmt den Zerfall, und die neutrale Mischung von KH_2PO_4 und KH_2PO_4 wirkt beinahe indifferent (Vers. 5, 7, 8, 9).

4. Die Verminderung des Flüssigkeitsvolums von 100 ccm auf 10 ccm pro 1,5 g Hefanol steigert den Zerfall (Vers. 10).

5. Leuzin und Tyrosin haben keinen Einfluß auf den Zerfall (Vers. 11).

6. Die Wirkung des KH_2PO_4 wird durch den Zusatz von Autolyseprodukten erhöht (Vers. 12 u. 13).

7. Der Hefanolauszug enthält ein proteolytisches Enzym (Vers. 16, 17 u. 18).

8. Die Wirkung des KH_2PO_4 hat das Auftreten von überschüssigem Pepton bei der Autolyse zur Folge (Vers. 21).

9. Der Zusatz von KH_2PO_4 zu den Wasserportionen, welche auf 75—80° C oder bis zum leichten Sieden erhitzt wurden, ruft eine Regeneration des proteolytischen Ferments hervor (Vers. 22, 23, 24).

10. Unter der Einwirkung des KH_2PO_4 wird die das Eiweiß in Pepton überführende Peptase regeneriert (Vers. 26).

Zum Schluß halte ich es für meine Pflicht, dem Herrn Professor Dr. W. Palladin, der mir durch liebenswürdige Ratschläge in bezug auf die anzustellenden Versuche entgegenkam, meinen aufrichtigen Dank auszusprechen.

Die Bindung des elementaren Stickstoffs durch Saccharomyceten (Hefen), Monilia candida und Oidium lactis.

Von **Alexander Kossowicz.**

Zikes[1]) hat als erster nachgewiesen, daß ein von ihm aufgefundener Sproßpilz, Torula Wiesneri, imstande sei, den freien Luftstickstoff zu assimilieren. Dem Verfasser[2]) gelang es dann, diese Fähigkeit auch für einen echten Saccharomyceten, Saccharomyces Pastorianus III. H. (Sacch. validus), eine Krankheitshefe, die Hefentrübung im Bier hervorruft, festzustellen. Da nähere Angaben über die von mir ausgeführten Versuche, welche zu diesem Befunde führten, bisher nicht veröffentlicht wurden, soll dies hier geschehen. Meine Untersuchungen erfuhren inzwischen insofern eine Erweiterung, als sie sich auch auf Saccharomyces membranaefaciens Hansen (Pichia membranaefaciens Hansen), Saccharomyces anomalus Hansen (Willia anomala), welcher letztere Sproßpilz nach Zikes[1]) in nahezu stickstofffreier Glukoselösung zur kräftigen Entwicklung kommt, und auf Monilia candida[3]) und Oidium lactis[3]) erstreckten. Erwähnt sei, daß auch Ch. B. Lipman[4]) kürzlich gefunden hat, daß mehrere Saccharomyceten und ebenso Mycoderma vini sich in stickstofffreien Nährböden unter Stickstoffaufnahme aus der Luft entwickeln.

---

[1]) Zikes, Heinrich, Sitzungsberichte der kais. Akademie der Wissensch. in Wien, math.-naturw. Kl. 1909, Abt. I, Bd. 118, S. 1091.

[2]) Kossowicz, Alexander, „Einführung in die Mykologie der Genußmittel und in die Gärungsphysiologie, Berlin 1911, S. 13, und „Einführung in die Agrikulturmykologie, I. Teil: Bodenbakteriologie“, Berlin 1912, S. 28.

[3]) Kossowicz, Alexander, „Einführung in die Agrikulturmykologie, I. Teil: Bodenbakteriologie“, Berlin 1912, S. 28.

[4]) Lipman, Ch. B., Journ. of Biol. Chem. Bd. 10, 1911, S. 169.

Vorher schon haben Löhnis und Pillai[1]) auf die Wahrscheinlichkeit der Assimilation des freien Luftstickstoffs durch eine Torula, Lindner[2]) durch Blastoderma salmonicolor hingewiesen, und vor kurzem haben H. Will und J. Scheckenbach[3]) für eine Reihe von Torulen gezeigt, daß sie sich in stickstofffreien Nährlösungen entwickeln können und den erforderlichen Stickstoff jedenfalls der Atmosphäre entnehmen.

Ich will nun in Kürze über die von mir ausgeführten Versuche berichten.

1. Versuch: Drei große Erlenmeyerkolben wurden mit je 500 ccm einer Nährlösung von der Zusammensetzung 1000 ccm Leitungswasser, 50 g reine Saccharose, 2 g Glukose, 2 g Mannit, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, 0,05 g $CaCO_3$ und 0,01 g $CaCl_2$ versetzt, sterilisiert und mit drei Absorptionsgefäßen verbunden, von denen das erste Wasser, das zweite Natronlauge, das dritte konzentrierte Schwefelsäure enthielt, um den Zutritt von Stickstoffverbindungen aus der Luft auszuschließen, nachdem zuvor die ersten zwei Versuchsgefäße mit einer Spur von Saccharomyces Pastorianus III Hansen (aus Bodenauszug-Bierwürze mit der Platinöse übertragen) geimpft worden waren.

Nach Verlauf von 3 Monaten konnte in den beiden beimpften Kolben eine reichliche Depotbildung und kräftige Ringbildung beobachtet werden; eine mit freiem Auge wahrnehmbare Kohlensäureentwicklung trat während dieser Zeit nicht ein.

Schon aus der guten Entwicklung der Hefe in der stickstofffreien Nährlösung durfte auf die Assimilation des freien Luftstickstoffs geschlossen werden; um aber ein vollständig einwandfreies Resultat zu erhalten, wurde nun in den beiden beimpften Kolben der Stickstoff nach der Methode von Kjeldahl bestimmt, durch deren Anwendung man nicht nur den Stickstoffgehalt der Hefe selbst, sondern auch den der Nährlösung erhält. Der Stickstoffgehalt des einen Kolbens war 4,8 mg, der des zweiten 5,2 mg. Es hat also tatsächlich eine Assimilation des freien Luftstickstoffs durch die Hefe stattgefunden.

2. Versuch: Unter Zugrundelegung einer Nährlösung von der gleichen Zusammensetzung wie die frühere und derselben Versuchsanordnung, wobei ein Kontrollkolben unbeimpft blieb, während in zwei

---

[1]) Löhnis und Pillai, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 20, 1908, S. 799 und Löhnis, Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie, S. 690, 692.

[2]) Lindner, P., Jahrbuch der V. L. B. 13, 1910, S. 534; s. auch Will und Scheckenbach[3]).

[3]) Will, H. und J. Scheckenbach, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 34, 1912, S. 1.

Kolben je eine Spur von Monilia candida übertragen wurde, die auch kräftige Kohlensäureentwicklung und Fruchtesterbildung in der Nährlösung gezeigt hat, erhielt ich für diesen Pilz: 6,2 mg und 6,8 mg Stickstoff.

3. Versuch: In diesem wurden von den drei Erlenmeyerkolben, einer mit einer Spur von Saccharomyces membranaefaciens Hansen (Pichia membranaefaciens H.), der zweite mit Saccharomyces anomalus Hansen (Willia anomala) beimpft, während der dritte als Kontrollkolben unbeimpft blieb. Die Kultur von Saccharomyces membranaefaciens ergab nach 3 Monaten eine Aufnahme von 6,9 mg Stickstoff, jene von Saccharomyces anomalus von 7,4 mg Stickstoff. (Nährlösung und Versuchsanordnung wie im 1. Versuch.)

4. Versuch: Bei gleicher Versuchsanordnung wie im 2. Versuch wurde als Impfmaterial statt Monilia candida, Oidium lactis verwendet. Der Stickstoffgewinn in den beiden Versuchskolben betrug: 4,6 mg und 5,8 mg.

Die oben genannten Mikroorganismen habe ich vor der eigentlichen Versuchsanstellung zuerst auf Würzeagar, dann in Bierwürze und endlich in einer zur Hälfte mit einem Bodenauszug (Gartenerde) verdünnten sterilen Bierwürze herangezüchtet, wobei eine dreimalige Überimpfung in Zwischenräumen von 10 bis 14 Tagen in die Bodenauszug-Bierwürze vor dem Einbringen in die mineralische Zuckerlösung stattgefunden hat.

Durch diese Untersuchungen wurde von mir der strikte Beweis erbracht, daß auch Saccharomyceten, und zwar ganz besonders kahmhautbildende, ferner Monilia candida und Oidium lactis den freien atmosphärischen Stickstoff assimilieren können.

Studien über die Antibiose zwischen Bacterium casei ε und den Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe.

Arbeit aus der schweizerischen milchwirtschaftlichen und bakteriologischen Anstalt Liebefeld-Bern. Vorstand: Prof. Dr. R. Burri.

Von **O. Gratz.**

Vorstand der kgl. ung. Versuchsstation f. Milchwirtschaft, Magyaróvár.

Die Eigenschaft der Milchsäurebakterien, in der Milch und ihren Produkten andere Bakterien durch die Bildung von Milchsäure zu unterdrücken und schließlich zu töten, ist von hervorragender Wichtigkeit für die Milchwirtschaft[1]). Rahm und Butter verderben schnell, wenn keine oder eine schwache Milchsäuregärung in ihnen stattgefunden hat. Milch und Käse würden wie andere proteinreiche Stoffe unfehlbar der Fäulnis anheimfallen, wenn die Milchsäurebakterien nicht da wären. Dieser Fall tritt ein, wenn in der Milch die Milchsäurebakterien zufällig fehlen; oder wenn wir die Milch aufkochen und so die Milchsäurebakterien, nicht jedoch gewisse sporenbildende Eiweißzersetzer, töten; oder wenn wir den Grundstoff für die Milchsäurebildung, den Milchzucker, durch Dialyse entfernen. Ein oft recht hartnäckiger Kampf spielt sich zwischen den verschiedensten mit den Milchsäurebakterien zu gleicher Zeit in die Milch gelangten Bakterien, wie den Heubazillen, Coli- und Aerogenes-Bakterien, Fluorescenten usw. ab und trotzdem kommt es verhältnismäßig selten vor, daß die ersteren unterliegen. Sind sie aber von einer geringen Vermehrungsfähigkeit oder schwache Säurebildner oder sind die anderen Bakterien in Übermacht vorhanden oder sonst in einem gewissen Vorteil, so werden die Milchsäurebakterien leichter überwältigt und es treten Milchfehler auf. Weigmann und Wolff[2]) beschrieben neuerdings einige Fälle, in welchen dadurch, daß keine, wenige oder schwache Milchsäurebakterien in der Milch waren, diese fehlerhafte

[1]) Auf die ähnliche Rolle der Milchsäurebakterien in anderen Gärungsgewerben, auf ihre Rolle im Darmkanal (Joghurt), bei der Konservierung von Gemüse und Futtermitteln soll bloß hingewiesen werden.

[2]) Weigmann und Wolff, Milchw. Zentralbl. 1912, **42**, S. 2 ff.

Eigenschaften annahm. Doch spielen bei der Entstehung von Milchfehlern, wie Burri[1]) schön dargelegt hat, auch noch andere Faktoren mit, so die abnormale feinere Beschaffenheit der Milch, das Anpassungsvermögen der Bakterien, die Steigerung einer für gewöhnlich harmlosen Eigenschaft gewisser Bakterien oder die plötzliche Verwandlung von nützlichen Bakterien in schädliche.

Wird nun Milch, in der die Milchsäurebakterien fehlen, schwach sind oder sonst unter ungünstigen Verhältnissen stehen, verarbeitet, so melden sich die Folgen im Produkte; es treten Rahmfehler auf, die Butter ist alsbald von schlechtem Geschmack, beim Käse können sich leichter abnormale Reifungserscheinungen entwickeln.

Bei der Reichhaltigkeit der Flora der zu verkäsenden Milch stehen viele Bakterienarten den Milchsäurebakterien gegenüber. Von größter Wichtigkeit ist aber für das Gelingen der Käse der Ausgang des Kampfes zwischen den Milchsäurebakterien und den wohl in keiner Milch fehlenden gasbildenden Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe. Der Wettkampf beginnt bereits in der Milch, besonders wenn dieselbe vom Abend bis zum Morgen steht und wie bei der Verarbeitung auf Emmentalerkäse eine „Reifung“ durchmachen muß. Wie R. Burri und J. Kürsteiner[2]) gezeigt haben, ist es das Bact. Güntheri (syn. Bact. bezw. Streptococcus lactis acidi), das sich in der reifenden Milch anreichert; der Kampf entscheidet sich also zu seinen Gunsten; die Coli-Aerogenes-Bakterien und die anderen werden schnell überflügelt. Beendet ist derselbe aber nicht, denn die Coli-Aerogenes-Bakterien können durch das Naturlab[3]), durch Wasser[4]), das der Milch vor dem Verkäsen eventuell zugegeben wurde, eine Verstärkung erhalten. Doch gleichzeitig bringt das Naturlab[5]) auch für die Milchsäurebakterien gute Hilfe. Neue Bact. Güntheri, besonders aber die kräftigeren Säurebildner, die Milchsäurelangstäbchen, beim Emmentalerkäse speziell Bact. casei ε treten zum Kampf heran. Bei Käsen wie der Emmentaler, die eine hohe Nachwärmungstemperatur und auf der Presse noch nach 9 Stunden eine Temperatur von 40—45° C im Innern haben[6]), setzen zu dieser Zeit hauptsächlich die Milchsäurelangstäbchen, unterstützt von den wärmeliebenden „Säurestreptokokken“, den Kampf fort, um dann, wenn die

[1]) R. Burri, Molkereitechnische Rundschau 1908, Nr. 11/12 und 1909, Nr. 1/2.
[2]) R. Burri und J. Kürsteiner, Landw. Jahrb. d. Schweiz 1910, S. 450.
[3]) Peter, Landw. Jahrb. d. Schweiz 1901, S. 376.
[4]) J. Kürsteiner, Molkereizeitung, Berlin, 1909, XIX, S. 580.
[5]) Thöni, Landw. Jahrb. d. Schweiz 1906, S. 181.
[6]) O. Jensen, Milchw. Zentralbl. 1906, S. 346.

Käse abkühlen, denselben wieder den gewöhnlichen Güntheri-Formen zu übergeben. Nach O. Jensens Untersuchungen[1]) ist zu dieser Zeit nämlich noch nicht aller Milchzucker vergoren. Die Temperaturverhältnisse werden infolge der Abkühlung der Käse nun auch für die Gasbildner günstiger und es entbrennt ein Entscheidungskampf, der für den Ausfall des Käses von weittragender Wichtigkeit ist. Gewinnen nämlich die Gasbildner an Boden, sei es nun, daß die Milchsäurebakterien schwache Säureproduzenten sind, sei es, daß sie in der Minderzahl sind oder sonst ein Umstand den Blähungserregern zu Hilfe kommt, so blähen die Käse und verlieren dadurch sehr an Wert.

Das Miteingreifen der Milchsäurelangstäbchen in den Kampf ist gewiß nicht nur beim Emmentalerkäse der Fall. Neuere Untersuchungen von Hastings und Hammer[2]) und W. Stewenson[3]) zeigen, daß diese Organismen ebenso zu den ständigen Bewohnern der Milch und ihren Produkten gehören wie die Güntheri-Formen. Daß die Milchsäurelangstäbchen in vielen Käsen bislang nicht gefunden wurden, liegt wohl hauptsächlich an der befolgten Methodik. Stewenson fand dieselben im Cheddarkäse, in dem sie bei früheren Untersuchungen nicht gefunden worden waren. Wir fanden Bact. casei im „Gomolya"-Käse aus dem der Liptauer oder Brinsenkäse bereitet wird, mit Hilfe der Burri-Röhrchen[4]).

Von der erwähnten günstigen Wirkung der Milchsäurebakterien wird bewußt und unbewußt in der Käsefabrikation schon lange Gebrauch gemacht.

Das Aufstellen der Abendmilch bis zum „Reif"werden in der Emmentalerkäserei besteht, wie R. Burri und J. Kürsteiner[5]) in ausgedehnten Versuchen zeigten, der Hauptsache nach in einer starken Anreicherung der Milchsäurebakterien vom Typus Bact. Güntheri. Als Vorbeugungsmittel gegen Käseblähung — wenn Gefahr vorhanden — verwendet der Schweizer Käser mitunter anstatt der Schotten das „Sauer" zur Labbereitung, das dann allerdings von tadelloser Beschaffenheit sein müßte und nach einem von R. Burri[6]) schon 1901 gemachten Vorschlag zweckmäßig mit Hilfe von Reinkulturen herzustellen wäre.

---

[1]) O. Jensen, Milchw. Zentralbl. 1906, S. 346.

[2]) Hastings und Hammer, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **25**, 1910, S. 419.

[3]) W. Stewenson, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **30**, 1911, S. 345.

[4]) Gratz und Rácz, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 1912, **33**, S. 401.

[5]) R. Burri und J. Kürsteiner, Landw. Jahrb. d. Schweiz 1910, S. 450.

[6]) R. Burri, Schweiz. landw. Zentralbl., Bd. 20, 1901, S. 15; zit. nach Weigmann in Lafars Techn. Mykologie, Bd. II, S. 229.

— Peter[1]) empfiehlt als Vorbeugungsmittel gegen Käseblähung „Sauer“ mit Kunstlab zu verwenden.

Ähnlich bei anderen Käsesorten. Die Holländer Käser kannten, schon lange bevor die Bakteriologie eine Erklärung gebracht, die günstige Wirkung der „langen Wei“ und die Milch zur Cheddarkäsebereitung wird ebenfalls schon seit langem ebenso einer „Reifung“ unterworfen, wie dies, wie erwähnt, auch in der Emmentalerkäserei praktiziert wird. Ja bei der Bereitung des Cheddar wird sogar der Bruch eine Zeitlang stehen gelassen, bis die Molke einen gewissen Säuregrad erreicht hat.

Die günstigen Erfahrungen mit den Milchsäurebakterien - (Bact. Güntheri) - Reinkulturen bei verschiedenen Käsesorten beruhen neben der Begünstigung der Labwirkung besonders auch auf der leichteren und sicheren Vernichtung der für die Käsereifung gefährlichen Mikroben. Den vom Schweiz. milchwirtschaftlichen Institut mit vorzüglichem Erfolg eingeführten Reinkulturen (Bact. casei ε) zur Labbereitung muß man neben den eben genannten günstigen Wirkungen auch eine direkte Beteiligung am Reifungsprozeß zuschreiben.

In der Literatur finden wir aber an vielen Orten auch speziell darüber Angaben, die auf die bedeutsame Rolle der Milchsäurebakterien im Kampf gegen die Blähungserreger hinweisen.

Boekhout und O. de Vries[2]) meinen, daß es schwer vermeidbar sei, daß die Milch nicht mit Kuhfäzes verunreinigt wird. Daraus sollte man folgern, daß alle Käse Blähung zeigen müßten und es wäre dies der Fall, wenn nicht äußere Einflüsse und die Milchsäurebakterien die Blähungserreger im Zaume halten würden.

F. C. Harrison[3]) zeigte in Käsungsversuchen mit Gasbildnern aus der Coli-Aerogenes-Gruppe und mit Milchsäurebakterien, daß die Zahl der Blähungserreger in den mit den genannten Mikroben bereiteten Käsen beträchtlich reduziert war und daß ihr Geruch und Geschmack bedeutend besser wurde als wie wenn bloß die Coli-Aerogenes-Bakterien allein zur Milch gemischt wurden.

Orla Jensen[4]) findet auch, daß die Milchsäurebakterien durch kräftige Säurebildung hemmend auf die Entwicklung der Blähungs- und Fäulniserreger wirken und daß Käsereien, die mit Käseblähungen zu kämpfen haben, als Sicherheitsmaßregel am besten vor der Fabrikation

[1]) Peter, Landw. Jahrb. d. Schweiz 1905, S. 169.

[2]) Boekhout und O. de Vries, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 1904, **12**, S. 89.

[3]) F. C. Harrison, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 1905, **14**, S. 477.

[4]) O. Jensen, Milchw. Zentralbl. 1906, S. 345 und 414.

neben den Bact. casei ε auch eine Milchsäure-Streptokokken-Kultur zusetzen könnten.

Thönis[1]) Versuche zeigen, daß sich bei der Labbereitung ein harter Kampf zwischen den Coli-Aerogenes- und den Milchsäurebakterien abspielt. Ein junges Lab enthält einen größeren Prozentsatz an Coli- und Aerogenes-Bakterien als ein solches von 2—3 Tagen. Der Kampf endet also auch da meist zugunsten der Milchsäurebakterien. Die jeweilige Temperatur spielt hierbei eine wichtige Rolle. Als günstigste Temperatur für die Labbereitung wird 30° C angesehen, da sich bei dieser Temperatur sowohl die Güntheri- wie die langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien vermehren. Versuche mit Reinkulturen von Bact. casei ε und einem Coli-Stamm (in gleicher Menge in frischen Nährboden geimpft) führten zum Resultat, daß bei höherer Temperatur (35°) letzterer schneller zurückgedrängt wird (nach 48—72 Stunden) als bei 25° C. Bact. lactis. acidi bestand den Kampf mit Coli schlechter, da sich letzteres im allgemeinen stärker vermehrte.

Harrisons und Connels[2]) Untersuchungen über den Bakteriengehalt des bei verschiedenen Temperaturen gereiften Cheddarkäses zeigen schön, daß zu Beginn, vom 1.—5. Tag nach der Bereitung der Käse, in diesen viele Coli-Aerogenes-Bakterien vorkommen, doch verschwinden dieselben nachher sehr schnell.

Bevor ich nun zu der Beschreibung meiner Versuche übergehe, kann ich nicht umhin, Herrn Prof. R. Burri für die liebenswürdige Aufnahme in sein Institut und die Ratschläge und Unterweisungen, die er mir zuteil werden ließ, auch an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank zu sagen.

Eigene Versuche.

Die Herkunft der Coli-Aerogenes-Stämme.

Die zu den antibiotischen Studien herangezogenen Coli- und Aerogenes-Stämme wurden im Liebefelder bakteriologischen Laboratorium gelegentlich isoliert und weiter gezüchtet. Einige Stämme waren zu Einzellkulturen verarbeitet worden. Es ließ sich aus den Protokollen folgendes über die zehn Stämme ermitteln.

1. Bact. coli (Ermensee) stammt aus der Gärprobe einer eingesandten Milch. Die Käserei, aus der die Probe stammte, hatte mit „Käseblähung“ zu kämpfen.

---

[1]) Thöni, Landw. Jahrb. d. Schweiz 1906, S. 181.

[2]) Harrison und Connel, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 1904, **12**, S. 65.

2. Bact. coli (Langnau) wurde aus verdächtigem Wasser isoliert.

3. Bact. aerogenes (Neugristen) stammt aus einem „Preßler Käse“. Der Käse blähte auf der Presse vom Fabrikationstag zum folgenden so stark, daß 12 kg aus dem Reif gestrieben wurden. Nach dem Entlasten spaltete der Käse entzwei.

4. Bact. aerogenes (Wiggiswil), eine fadenziehende Art, wurde aus einer Milchprobe isoliert.

5. Bact. coli (Ranfluh) wurde aus Wasser isoliert, das wahrscheinlich die Ursache war, daß die Käse „zu viel Loch“ hatten.

6. Bact. coli wurde aus Naturlab isoliert.

7. Bact. coli stammt aus stinkender Gärprobe.

8. Bact. coli aus pathologischem Eutersekret isoliert.

9. Bact. coli stammt aus menschlichem Stuhl.

10. Bact. aerogenes wurde aus Milch isoliert.

Prüfung der Coli-Aerogenes-Stämme auf Gasbildung.

Um zu sehen, ob das Gasbildungsvermögen der Blähungserreger infolge der längeren Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden noch nicht gelitten hatte, fanden wir es für notwendig, dieselben diesbezüglich bei verschiedenen Temperaturen zu prüfen. Zu diesem Zwecke beobachteten wir die in Pepton-Schotten[1]) abgeimpften Stämme bei 30, 38, 42 und 45° C im Thermostat 48 Stunden hindurch. Die Prüfung ergab folgende Resultate:

Tabelle I.

\+ = Entwicklung und Gasbildung nach 48 Stunden,
— = Entwicklung, doch keine Gasbildung nach 48 Stunden.

	30°	38°	42°	45°	
Bact. coli . . Nr. 1	+	+	+	+	
„ „ . . „ 2	+	+	+	—	
„ aerogenes „ 3	+	+	+	—	
„ „ „ 4	+	+	+	+	
„ coli . . „ 5	+	+	+	+	
„ „ . . „ 6	+	+	+	—	
„ „ . . „ 7	+	+	+	—	
„ „ . . „ 8	+	+	+	+	
„ „ . . „ 9	+	+	+	—	
„ aerogenes „ 10	+	+	+	—	Entwickelt sich bei 45° schwach

[1]) Ein Nährboden, der aus Schotten, d. s. durch Erhitzen und Säurezusatz von Eiweißstoffen möglichst befreite Käsereimolken, unter Zusatz von 1 % Witte-Pepton bereitet wird.

Wir sehen, daß das Gasbildungsvermögen bei keinem der Stämme verloren gegangen war. Bei einzelnen Stämmen, nämlich bei 1, 3, 4, 5, 7, 9, 10 ließ sich sogar ein sehr kräftiges Gasbildungsvermögen feststellen. Bemerkenswert ist weiter, daß bei 45° C, obwohl Entwicklung vorhanden, die Gasbildung bei den meisten Coli- bezw. Aerogenes-Stämmen eingestellt ist.

Verhalten der Coli-Aerogenes-Stämme gegenüber Milchsäure.

Da die Milchsäurebakterien nicht bloß durch ihr schnelles Wachstum und den Verbrauch der Nährstoffe, sondern besonders auch durch die gebildete Milchsäure alle anderen Mikroben — insbesondere solche, die nicht auch selbst Säurebildner sind und so derselben besser widerstehen — unterdrücken, war es von Interesse, die verschiedenen Stämme auch von diesem Standpunkte aus einer Prüfung zu unterwerfen.

Als Nährboden kamen 10 ccm Milchzuckerbouillon in Reagenzgläsern zur Anwendung. Ein jedes Reagenzglas erhielt die nötige Menge Milchsäure aus einer entsprechend bereiteten Lösung in sterilem Wasser. Um den Nährboden nicht allzusehr zu verdünnen, wurden diese Lösungen so bereitet, daß wir davon zu der Milchzuckerbouillon nie mehr wie 0,5—1,0 ccm zu geben nötig hatten. Die mit Milchsäure versetzten Nährböden wurden mit je einer Öse aus einer jungen Agarkultur der Coli-Aerogenes-Stämme beschickt und bei 30° C im Thermostaten aufgestellt. Beobachtungszeit 72 Stunden. — Die Resultate folgen in Tabelle II.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß eine Menge von 0,1 % Milchsäure genügt, um die Gasbildung bei den meisten der Coli- bezw. Aerogenes-Stämme zu unterdrücken. Es gibt aber immerhin Stämme unter den geprüften Coli-Aerogenes-Bakterien, die selbst bei Gegenwart von 0,2 % Säure noch der Gasbildung fähig sind.

Das Vermehrungsvermögen und die Gasbildungsfähigkeit sind nicht eng miteinander verknüpft. Bei einer Menge von 0,1 % Milchsäure vermehrten sich noch alle der geprüften Stämme, bei 0,2 bis 0,3 % trübt sich die Milchzuckerbouillon bloß mehr bei einigen, es ist also bei den übrigen auch die Vermehrung eingestellt.

Bemerkenswert ist weiter, daß die Coli-Aerogenes-Stämme, die auch bei einem höheren Milchsäuregehalt noch der Gasbildung fähig sind, sich gerade aus den Stämmen zusammenreihen, die sich bei der Prüfung auf ihr Gasentwicklungsvermögen als sehr kräftige Gasbildner erwiesen hatten.

Tabelle II.

Tr. = trüb, d. h. Vermehrung eingetreten. + = Gas.
K. = klar, d. h. keine Vermehrung eingetreten. — = kein Gas.

% Milchsäure	0,05	0,1	0,2	0,3	0,5	1,0
Säuregrad in 100 ccm Bouillon ¹/₄ n. KOH	2,22	4,44	8,88	13,3	22,2	44,4
Stamm Nr. 1	Tr. +	Tr. —	K. —	Tr. —	K. —	K. —
„ „ 2	Tr. +[1]	Tr. —	K. —	K. —	K. —	K. —
„ „ 3	Tr. +	Tr. —	K. —	K. —	K. —	K. —
„ „ 4	Tr. +	Tr. —	Tr. +	K. —	K. —	K. —
„ „ 5	Tr. +	Tr. +[2]	Tr. +	K. —	K. —	K. —
„ „ 6	Tr. +	Tr. —	K. —	K. —	K. —	K. —
„ „ 7	Tr. +	Tr. —	K. —	K. —	K. —	K. —
„ „ 8	Tr. +	Tr. —	K. —	Tr. —	K. —	K. —
„ „ 9	Tr. +	Tr. —	Tr. +	K. —	K. —	K. —
„ „ 10	Tr. +	Tr. +[2]	K. —	K. —	K. —	K. —

Um die Wirkung von 0,1 % Milchsäure nochmals zu überprüfen, legten wir in einem folgenden Versuch Pepton-Schotten-Agar-Schüttelkulturen mit 0,1 % Milchsäure an. Die Schüttelkulturen erweisen sich bekanntlich im allgemeinen als empfindlicher beim Nachweis der Gasbildung. Die Ergebnisse waren folgende:

Tabelle III.

Die Agarröhrchen stehen vier Tage bei 30° C; der Agar ist getrübt, also Wachstum vorhanden.

Bact. coli . .	1	—	Bact. coli . .	6	—
„ „ . .	2	—	„ „ . .	7	—
„ aerogenes	3	+	„ „ . .	8	—
„ „	4	+	„ „ . .	9	+
„ „ . .	5	—	„ aerogenes	10	+

Der Versuch erhärtet also das in Milchzuckerbouillon erhaltene Ergebnis, daß schon 0,1 % Milchsäure genügt, um die Gasbildung, nicht aber die Vermehrungsfähigkeit zu unterdrücken. Interessant ist, daß von den vier Stämmen, die unter den genannten Verhältnissen noch Gas zu bilden imstande waren, sämtliche Aerogenes-Stämme dabei sind.

[1]) Gasbildung erst nach 48 Stunden, die übrigen schon nach 24 Stunden.

[2]) Erst nach 72 Stunden Gas.

Die Bakterien der Aerogenes-Gruppe sind ja bekanntlich viel kräftigere Gasbildner als diejenigen der Coli-Gruppe.

Ein weiterer Versuch sollte darüber Aufklärung geben, ob die ungeimpften Zellen in den Gläschen, in welchen Wachstum nicht eingetreten war, noch am Leben oder durch die Säure vernichtet waren. Es wurden daher aus einigen der betreffenden Milchsäure-Milchzuckerbouillonkulturen mit einer großen Öse (6 mm Durchmesser) frische Kulturen bei 30° C in Milchzuckerbouillon angelegt. Die erhaltenen Ergebnisse sind in der folgenden vierten Tabelle zusammengestellt.

Tabelle IV.

Aus	Konzentration		Stamm	Ergebnis
Aus	0,2 %	Milchsäure	+ Coli 1	geimpfte Bouillon nach 24 Stunden trüb und kräftige Gasbildung
„	0,2 %	„	+ Aerogenes 3	
„	0,2 %	„	+ Coli 6	

In diesen Gläschen mit schwacher Milchsäurekonzentration waren also die eingeimpften Bakterien noch am Leben.

Aus	Konzentration		Stamm	Ergebnis
Aus	0,5 %	Milchsäure	+ Coli 1	geimpfte Bouillon nach 48 Stunden klar, keine Vermehrung
„	0,5 %	„	+ Aerogenes 10	
„	1,0 %	„	+ Coli 1	
„	1,0 %	„	+ Aerogenes 3	
„	1,0 %	„	+ Coli 6	geimpfte Bouillon nach 48 Stunden trüb, Gasentwicklung (zweimal wiederholt)
„	1,0 %	„	+ Aerogenes 10	geimpfte Bouillon nach 48 Stunden klar, keine Vermehrung.

Wir sehen, daß bei den Gläschen mit höherem Milchsäurezusatz bloß in einem Fall, und zwar in einer recht viel, nämlich 1,0 % Milchsäure enthaltenden Kultur sich noch lebensfähige Keime fanden. Daß hier kein Fehler vorlag, zeigte sich dadurch, daß aus der Milchsäure-Milchzuckerbouillon-Kultur des Stammes Coli 6 zweimal angelegte Kulturen jedesmal angingen. Es scheint also, daß manche Stämme oder Zellen auch einen recht hohen Säuregrad ohne besondere Schädigung längere Zeit ertragen können.

Verhalten des Bact. casei ε gegen Milchsäure.

Es war von Interesse auch das Verhalten des Bact. casei ε in Milchsäure enthaltenden Nährböden zu prüfen. Der bei diesen und den folgenden Versuchen benutzte Bact. casei ε-Stamm ist ein kräftiger Milchsäurebildner und wurde zur Zeit der Versuche vom Laboratorium in Reinkulturen zur Labbereitung abgegeben. Zu diesem wie auch zu

den folgenden Versuchen kam eine 24 Stunden, selten 48 Stunden alte, nie aber eine ältere Zucht zu Verwendung. In einer Parallelreihe wurde gleichzeitig mit Bact. casei ε eine aus „Naturlab" stammende Mycoderma geimpft. Die Bereitung der Milchsäure-Pepton-Schotten geschah genau wie weiter oben beschrieben. Ob eine Entwicklung stattgefunden, wurde aus der Trübung des Nährbodens und mikroskopisch festgestellt. Bei der mikroskopischen Prüfung wurde auch ungefähr die Menge der im (Hängend. Tropfen) Gesichtsfelde sichtbaren Zellen abgeschätzt.

Tabelle V.

++ reichliches Wachtum; + spärliches Wachstum; — kein Wachstum.

Temperatur 42° C.

% Milchsäure	0,05	0,1	0,2	0,3	0,5	1,0
Soxhlet H. Grd. in 100 ccm	2,22	4,44	8,88	13,3	22,2	44,4
Bact. casei ε	++	++	++	+	+	—
Bact. casei ε + Mycoderma	++	++	++	+	+	—

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß Bact. casei ε bei weitem weniger und erst durch eine größere Menge von Milchsäure an der Vermehrung gehindert wird als die Coli-Aerogenes-Bakterien. Es findet nämlich auch noch bei einer Menge von 0,5 % Milchsäure ein Wachstum statt, wenn auch weniger reichlich, als bei einer geringeren Menge von Milchsäure im Nährboden. Eigentümlich änderte sich das mikroskopische Bild der in 0,3—0,5 % Milchsäure-Nährboden gewachsenen Zellen. Bei 0,3 % fanden wir langgeschlängelte septierte Fäden, bei 0,5 % kurze oft vielfach gekrümmte Fäden, welche den Eindruck von Involutionsformen machten. In dem Nährboden mit geringerem Säuregehalt fanden sich bloß die bekannten Langstäbchenformen.

Ob Bact. casei ε mit Mycoderma zusammen oder für sich allein in den Milchsäure-Pepton-Schotten wächst, scheint ohne Bedeutung zu sein.

Versuche mit Milchsäure-Pepton-Schotten-Nährboden von 0,6—0,9 % Milchsäuregehalt führten nämlich zu folgendem Resultat:

Milchsäure-%	0,6	0,7	0,8	0,9
ε + Mycoderma	—	—	—	—

Wir sehen also, daß Bact. casei ε mit Mycoderma die Vermehrung bei 0,5 % Milchsäuregehalt des Nährbodens gerade so einstellt wie wenn Bact. casei ε allein ohne Mycoderma geimpft wird.

Antibiotische Versuche.

Versuch I.

Die gleiche Menge, dieselbe Öse, aus einer 24 Stunden alten Bact. coli- resp. aerogenes- und einer ebenfalls jungen Bact. casei ε - Milchzuckerbouillonkultur wird in frische Milchzuckerbouillon übertragen. Die Röhrchen stehen dann 24 Stunden im Thermostat bei 30, 38, 42 und 45° C bis zur Untersuchung. Die Prüfung besteht, wie auch aus der Tabelle ersichtlich, in einer mikroskopischen Prüfung im hängenden Tropfen, Untersuchung auf Gasbildung und Bestimmung des Säuregrades. Von den Säuregradzahlen ist der Titer der Bouillon, hier wie in allen folgenden Versuchen, überall abgerechnet.

Tabelle VI.

Coli- bezw. Aerogenes-Stamm-Nr.	30° C			38° C			42° C			45° C		
	Mikr.	Gas	S.-Gr.	Mikr.	Gas	S.-Gr.	Mikr.	Gas	S.-Gr.	Mikr.	Gas	S.-Gr.
Stamm Nr. 1	Coli	+++	8	C > ε	++	17	C > ε	+	22	C < ε	+	22
„ „ 3	Ae	+++	11	Ae > ε	++	13	Ae > ε	+	20	Ae = ε	+	23
„ „ 4	Ae	+++	8	Ae > ε	++	12	Ae < ε	—	19	Ae < ε	—	27
„ „ 6	Coli	+++	10	C > ε	++	19	C < ε	—	21	C = ε	+	25
„ „ 10	Ae	+++	12	Ae = ε	+	15	Ae < ε	—[1]	23	ε	—[1]	30

Zeichenerklärung: C bedeutet Bact. coli; Ae Bact. aerogenes; +++ viel, ++ mittel, + wenig, ± sehr wenig und — kein Gas; = d. h. gleiche Mengen, > und < zeigen das Überwiegen der einen oder der anderen Bakterienart an.

Bezüglich der Gasbildung wurde derselbe Versuch mit folgenden Ergebnissen bei 42° und 45° C wiederholt. Nährboden Milchzuckerbouillon.

	42° C	45° C		42° C	45° C
Stamm Nr. 1	+	—	Stamm Nr. 6	+	+
„ „ 2	±	—	„ „ 7	+	+
„ „ 3	+	+	„ „ 8	+	++
„ „ 4	+	+	„ „ 9	—	—
„ „ 5	—	+	„ „ 10	±	—

Aus den Ergebnissen geht hervor, daß sich zwischen den Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe und dem Bact. casei ε, falls sie von Beginn an in ungefähr derselben Menge anwesend sind, bei den höheren Tem-

[1]) In Kontroll-Reinkulturen bei 42 und 45° C auch keine Gärung.

peraturen 42 und 45° C ein recht harter Kampf abspielt. Derselbe entscheidet sich bald zugunsten der einen, bald zugunsten der anderen Art. Coli wie Aerogenes kommen bei den genannten Wärmegraden neben Bact. casei ε nicht nur gut zur Entwicklung, sondern bilden, wenn auch in geringerer Menge als bei den niederen Temperaturen, auch Gas. Ja, sie bedrängen sogar die Milchsäurelangstäbchen sehr, wie man aus den Säuregraden dieser Tabelle und den folgenden, in welchen Bact. casei ε gewisse Vorteile besitzt, sehen kann. Bei 30° C beherrschen die Coli-Aerogenes-Bakterien allein das Feld und sie haben auch die Übermacht bei 38° C. Darauf weisen der mikroskopische Befund, Gasbildung und der niedere Säuregrad hin.

Versuch II.

Ein auf ähnlichen Grundlagen ausgeführter Versuch wie der vorherige, wobei jedoch auch die gebildete Gasmenge gemessen wurde, ergab, wie Tabelle VII zeigt, dasselbe Ergebnis. Die entstandene Gasmenge wurde nach Burris und Düggelis[1]) Gasbestimmungsmethode gemessen; dabei wurde wie folgt verfahren. Genau 10 ccm Pepton-Schotten werden aus einer 24 Stunden alten Bact. casei ε und aus 2—3 Tage alten Bact. coli- und aerogenes-Pepton-Schotten-Kulturen geimpft. Die Platinöse ist an einer Stelle geknickt und sie wird immer bis dahin eingetaucht, um so wenigstens annähernd mit den gleichen Mengen zu operieren. Der Agarzylinder der Gasbestimmungsröhre liegt genau auf der Pepton-Schotten-Schicht auf; es sind also eher anaerobe denn aerobe Verhältnisse vorhanden. — Temperatur 42° C.

Tabelle VII.

Die bei 42° C gebildete Menge Gas in ccm nach:

	24 Stunden		48 Stunden		
	C + ε	C kontroll.	C + ε	C kontroll.	
Coli . . . 1	2,25	3,00	2,50	4,00	Coli 1 + ε, doch über dem Nährboden steht eine Luftschicht von 10 ccm, also mehr aerobe Verhältnisse: nach 24 Std. 2,5 ccm, nach 48 Std. 3,25 ccm Gas.
Aerogenes . 4	1,50	4,00	1,50	5,00	
Coli . . . 5	1,25	2,00	1,50	3,00	
„ . . . 6	1,50	2,75	2,00	5,00	
„ . . . 7	2,00	3,25	2,00	4,25	
„ . . . 8	1,50	4,50	1,50	5,50	
„ . . . 9	3,00	4,50	3,25	5,00	
Aerogenes . 10	4,50	12,50	5,00	15,25	

[1]) Burri und Düggeli, Centralbl. f. Bakt., I. Abt., **XLIX**, S. 154.

Aus diesem Versuch geht deutlich hervor, daß Bact. coli und Bact. aerogenes neben Bact. casei ε noch recht gut aufkommen kann, aber letzterer jedenfalls einen hemmenden Einfluß ausübt, denn die Blähungserreger bilden bedeutend weniger Gas, wenn sie neben ihm gedeihen müssen. Wir sehen aber weiter auch, daß selbst nach 24 Stunden, also wo Bact. casei ε bereits ungefähr (siehe Tabelle VI) 0,5 % Milchsäure gebildet hat, die Coli- und Aerogenes-Bakterien noch fähig sind — wenn auch eine geringe Menge — Gas zu produzieren.

Die Verhältnisse liegen also in Wirklichkeit anders als wie wenn wir in einem Nährboden mit 0,5 % Milchsäurezusatz auf Vermehrungsfähigheit und Gasbildung prüfen. Es scheint, als ob die unter zunehmendem Säuregrad entstehenden Zellen mehr Widerstandskraft gegen Säure erhalten und so ihre Eigenschaften, hier speziell das Gasbildungsvermögen, eher noch bewahren können.

Versuch III.

In diesem Versuch wurde eine geringere Menge (kleine Öse) einer jungen Colikultur mit einer größeren Menge (große Öse) einer 24 Stunden alten Bact. casei ε-Kultur zusammen in Pepton-Schotten geimpft. Die Prüfung der Kulturen nach 24 Stunden führte zu folgendem Ergebnis:

Tabelle VIII.

Nach 24 Stunden. — vz = vereinzelt.

Coli- bezw. Aerogenes-Stamm-Nr.	30° C			38° C			42° C			45° C		
	Mi-krosk.	Gas	S.-Gr.	Mi-krosk.	Gas	S.-Gr.	Mi-krosk.	Gas	S.-Gr.	Mi-krosk.	Gas	S.-Gr.
2	C	++	5,5	ε < C	+	10,1	ε > C C vz	—	26,0	ε > C C vz	—	28,0
4	Ae	++	8,0	ε < Ae ε vz	++	9,1	ε > Ae	—	31,0	ε > Ae	—	29,0
7	C ε vz	++	10,0	ε < C	+	18,19	ε > C	—	31,0	ε > C	—	36,0
8	C	++	8,0	ε < C ε vz	++	8,0	ε > C C vz	—	29,0	ε > C C vz	—	34,0
9	C	++	4,0	ε < C ε vz	++	8,0	ε > C	—	30,0	ε	—	26,0

Wie aus diesem Versuch hervorgeht, spielt die Temperatur beim Konkurrenzkampf selbst dann noch eine wichtige Rolle, wenn die Milchsäurebakterien von Anfang an eine Übermacht haben. Wir sehen, daß bei 30° C Coli immer obenauf kommt, da sich Bact. casei ε sozusagen

gar nicht entwickelt, wie dies schon die niedrigen Säuregrade zeigen, die gewiß nur von den Coli resp. Aerogenes herrühren. Die Gasproduktion ist deshalb auch kräftig.

Bei 38° C können wir bereits eine stärkere Vermehrung von seiten des Bact. casei ε konstatieren, wenn sich auch in einigen Fällen nur vereinzelt langstäbchenförmige Zellen zeigen. Coli und Aerogenes haben jedoch die Übermacht und so ist Gasproduktion in allen Fällen vorhanden.

Bei 42 und 45° C, für Bact. casei ε günstigen Temperaturen, bei welchen jedoch auch die Blähungserreger noch gut fortzukommen pflegen, sind die Milchsäurebakterien die Herrscher. Sind die Coli und Aerogenes auch nicht vollständig verschwunden, so sind sie so in der Minderzahl oder gar vereinzelt, daß die Gasbildung vollständig unterdrückt wird.

Versuch IV.

Dieser Versuch gleicht in seiner Ausführung genau den vorhergegangenen mit dem Unterschiede, daß Bact. casei ε mit Mycoderma zusammen verimpft wurde.

Tabelle IX.

Nach 24 Stunden. — vz = vereinzelt.

Coli- bezw. Aerogenes-Stamm-Nr.	30° C			38° C			42° C			45° C			
	Mikrosk.	Gas	S.-Gr.	Mikrosk.	Gas	S.-Gr.	Mikrosk.	Gas	S.-Gr.	Mikrosk.	Gas	S.-Gr.	
1	C	+	9,5	$\varepsilon < C$	+	23,0	$\varepsilon > C$	—	37,0	$\varepsilon > C$	—	36,0	Bei 45° gelangt Mycoderma nicht zur Entwicklung, es wird keine Kahmhaut gebildet
2	C ε vz	++	9,0	$\varepsilon = C$	++	29,0	$\varepsilon > C$	—	43,0	$\varepsilon > C$	—	37,0	
3	Ae ε vz	+	9,0	$\varepsilon < Ae$	—	24,0	$\varepsilon > Ae$	—	33,0	$\varepsilon > Ae$	—	39,0	
4	Ae ε vz	++	10,0	$\varepsilon > Ae$	+	30,0	$\varepsilon > Ae$	—	43,0	$\varepsilon > Ae$	—	35,0	
5	C ε vz	+	8,0	$\varepsilon < C$	+	16,0	$\varepsilon > C$	—	36,0	$\varepsilon > C$	—	34,0	
6	$\varepsilon < C$	+	9,0	$\varepsilon > C$	—	24,0	ε C vz	—	37,0	ε C vz	—	39,0	
7	$\varepsilon < C$	++	12,0	$\varepsilon > C$	++	23,0	$\varepsilon > C$	—	47,0	$\varepsilon > C$	—	42,0	
8	C ε vz	++	12,0	$\varepsilon = C$	++	35,0	$\varepsilon > C$	—	40,0	verunglückt			
9	$\varepsilon < C$	++	6,0	$\varepsilon > C$	++	34,0	$\varepsilon > C$ C vz	—	39,0	$\varepsilon > C$ C vz	—	44,0	
10	Ae	++	12,0	$\varepsilon < Ae$	++	12,0	ε Ae vz	—	33,0	ε	—	27,5	

Dieser Versuch zeigt, daß Mycoderma Bact. casei ε im Kampf gegen die Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe stärkt, indem Bact. casei ε im allgemeinen eine kräftigere Vermehrung zeigt als wie im vorherigen Versuch ohne Mycoderma. Schon bei 30° C zeigen sich Milchsäurebakterien in größerer Zahl als wie im Versuch III. Das Verhältnis der Coli-Aerogenes zu den Milchsäurebakterien ist etwa wie 2 : 1. Bei 38° C sind die Verhältnisse noch günstiger für Bact. casei ε, das sogar die Gasbildung der Blähungserreger in einigen Fällen ganz unterdrückt hat und auch sonst schon in größerer Zahl vorhanden ist als die Gasbildner. Auf die kräftigere Vermehrung weisen in diesem Versuch ebenfalls auch die höheren Säuregrade hin. Dies ist kein Widerspruch mit der säureverzehrenden Eigenschaft der Mycoderma. Es scheint, daß im Anfang die Säureproduktion stärker und schneller ist als der Verbrauch derselben durch Mycoderma. Letzterer macht sich erst dann bemerkbar, nachdem die Säurebildung durch die Milchsäurebakterien eingestellt wird. — Bei 42 und 45° C sind die Gasbildner noch schlechter daran, sie geraten vollständig in die Minderzahl, sind nur mehr vereinzelt oder gar nicht mehr zu finden und so ist natürlich auch von Gasproduktion keine Rede mehr.

Versuch V.

Indem wir zuerst eine große Öse einer Bact. casei ε-Kultur in die Pepton-Schotten-Gläschen impften, dieselben nachher $2^1/_2$ Stunden lang im Thermostat bei 42° C stehen ließen und dann erst mit derselben Öse Bact. coli bezw. aerogenes einimpften, gaben wir den Milchsäurebakterien einen Vorsprung. Wir dachten auf diese Weise während der $2^1/_2$ Stunden den Bact. casei an den frischen Nährboden zu gewöhnen und eine, wenn auch schwache, Vermehrung während der genannten Zeit schien nicht ausgeschlossen. Von einer Säurebildung war selbstredend nach so kurzer Zeit keine Rede, es findet ja bekanntlich zuerst eine starke Vermehrung der Milchsäurebakterien statt und erst dann setzt die Milchsäuregärung ein. Die Pepton-Schotten hatten, wie an einem Kontrollröhrchen bestimmt wurde, denselben Säuregrad wie ursprünglich, nämlich 3,1 Soxhlet-Henkel-Grade.

Die Ergebnisse des Versuches zeigt Tabelle X.

Wir sehen aus der Tabelle, daß der Vorsprung von $2^1/_2$ Stunden für Bact. casei ε nur von Vorteil war. Nur bei 30° C konnten Bact. coli und aerogenes den Vorsprung, den Bact. casei ε erhalten hatte, einholen. Im Vergleich zu früheren Versuchen, wo die Milchsäurebakterien keine besondere Begünstigung erhielten, zeigt sich hier bei

30° C eine kräftigere Vermehrung und wenn auch die Blähungserreger in der Mehrzahl sind, so ist die Gasbildung doch stark geschwächt.

Tabelle X.

Nach 24 Stunden. — vz = vereinzelt.

Coli- bezw. Aerogenes-Stamm-Nr.	30° C			38° C			42° C			45° C			
	Mi-krosk.	Gas	S.-Gr.	Mi-krosk.	Gas	S.-Gr.	Mi-krosk.	Gas	S.-Gr.	Mi-krosk.	Gas	S.-Gr.	
1	$\varepsilon < C$	+	12,0	$\varepsilon = C$	—	27,0	$\varepsilon > C$	—	35,0	ε	—	39,5	Gasbildung bei 30° C in allen Fällen sehr schwach
2	$\varepsilon < C$	+	9,0	$\varepsilon > C$	—	25,5	$\varepsilon > C$	—	45,0	ε C vz	—	42,0	
3	Ae ε vz	+	11,0	$\varepsilon > Ae$	—	34,0	ε Ae vz	—	39,5	ε	—	38,0	
4	$\varepsilon < Ae$	+	9,0	$\varepsilon > Ae$	—	29,0	ε Ae vz	—	39,5	ε	—	41,0	
5	$\varepsilon < C$	+	8,0	$\varepsilon = C$	—	27,5	$\varepsilon > C$	—	37,0	ε C vz	—	32,0	
6	$\varepsilon < C$	+	12,0	ε C vz	—	27,0	ε	—	38,5	ε	—	40,0	

Bei 38° C ist Bact. casei ε hier schon in so starker Übermacht und soweit Herr, daß gar keine Gasbildung mehr stattfindet. Bei 42°, besonders aber bei 45° C kommen die Blähungserreger sogar nur schon vereinzelt oder gar nicht mehr vor. Ein Vergleich dieser Tabelle mit den vorhergehenden bringt diese Verhältnisse gut zum Ausdruck.

Versuch VI.

Ein frisch bereiteter Pepton-Schotten-Nährboden zeigte bei der Bestimmung des Titers einen hohen Säuregrad. Es stellte sich heraus, daß dies auf einen Irrtum des mit der Bereitung der Nährböden betrauten Laboranten zurückzuführen war. Es lag nun ein gewisses Interesse daran den Nährboden doch zu verwenden, um so zu sehen, wie sich der Kampf ums Dasein in einem schon ursprünglich sauren Nährboden abspielt. Der Nährboden hatte 12 Soxhlet-Henkel-Grade, was einem Gehalt von 0,27 % Milchsäure entspricht, somit ein Säuregehalt, bei dem wie wir eingangs gesehen die Gasbildner sich kaum, hingegen Bact. casei ε noch vermehrt. Die Ausgangskulturen sind 24 Stunden alt. Bact. casei ε erhält einen Versprung von 2½ Stunden, der Säuregrad der Pepton-Schotten steigt während dieser Zeit nicht.

Tabelle XI.

Nach 24 Stunden. Gleiche Ösen, B. casei ε $2^1/_2$ Std. Vorsprung. — vz = vereinzelt.

Coli- bezw. Aerogenes-Stamm-Nr.	30° C			38° C			42° C			45° C		
	Mi-krosk.	Gas	S.-Gr.	Mi-krosk.	Gas	S.-Gr.	Mi-krosk.	Gas	S.-Gr.	M-krosk.	Gas	S.-Gr.
1	ε > C C vz	—	7,0	ε	—	24,0	ε	—	40,0	ε	—	31,0
2	ε > C C vz	—	8,0	ε	—	20,0	ε	—	36,0	ε	—	38,0
3	ε > Ae Ae vz	—	8,0	ε	—	24,0	ε	—	30,0	ε	—	43,0
4	ε > Ae	—	10,0	ε	—	16,0	ε	—	31,5	ε	—	25,0
5	ε > C C vz	—	7,0	ε	—	32,1	ε	—	40,0	ε	—	40,0
6	ε > C C vz	—	7,0	ε	—	21,9	ε	—	28,5	ε	—	36,0

Der Säuregrad des Nährbodens ist auch hier überall abgerechnet.

Aus den Daten obiger Tabelle ergibt sich, daß Bact. casei ε, wenn es einen Vorsprung in der Entwicklung hat und außerdem durch einen hohen Säuregehalt des Nährbodens unterstützt wird, sogar bei 30° die Übermacht über die Blähungserreger gewinnen kann, so daß die letzteren sich nur mehr vereinzelt vorfinden und so auch kein Gas bilden. Die Coli- und Aerogenes-Bakterien zeigen also als schwache Säurebildner, bei Gegenwart von Säure, wenig Fähigkeit zur Vermehrung und Gasproduktion. Bact. casei ε vermehrte sich hingegen, wie dies besonders auch die Säuregrade zeigen, recht gut und wenn die S.-Grade diesen Schluß erlauben, fast genau so, wie wenn der Nährboden ursprünglich neutral gewesen wäre. Dieser Versuch zeigt also wie der eingangs beschriebene, wie wenig Bact. casei ε, als kräftiger Säureproduzent, der Säure gegenüber empfindlich ist. Er wirft zugleich ein Licht auf die Wirkungsweise der Hohl-Steineggerschen [1]) Säuremischung für Labbereitung und erklärt ihre günstige Wirkung bei Labfehler, besonders gegen blähendes Lab.

Versuch VII.

Die Versuchsanordnung ist ähnlich wie bei dem fünften Versuch, nur wurde der Vorsprung für Bact. casei ε um das Doppelte verlängert. Es wurde also den Milchsäurebakterien bei einer zu ihrer Entwicklung

[1]) Schweiz. Milchzeitung 1912, Nr. 12 und 20.

günstigen Temperatur, bei 42° C, Gelegenheit gegeben 5 Stunden lang allein ohne die Blähungserreger im Nährboden zu verweilen, um zu sehen, wie diese Zeit ausgenützt wird.

Mit den Coli-Aerogenes-Stämmen Nr. 1, 3, 7, 6 und 10 wurde der Versuch (Versuch a) zu gleicher Zeit, mit den übrigen zwei Tage später (Versuch b) ausgeführt.

Tabelle XII.

Nach 24 Stunden. — vz. = vereinzelt.

Versuch	Coli- bezw. Aerogenes-Stamm-Nr.	30° C			38° C			42° C			45° C		
		Mi-krosk.	Gas	S.-Gr.	Mi-krosk.	Gas	S.-Gr.	Mi-krosk.	Gas	S.-Gr.	Mi-krosk.	Gas	S.-Gr.
a	1	ε > C	—	19,0	ε	—	39,0	ε	—	24,0	.	.	.
b	2	ε > C	—	18,5	ε	—	34,5	ε	—	35,0	ε	—	34,0
a	3	ε > Ae	—	21,0	ε Ae vz	—	36,0	ε	—	40,0	.	.	.
b	4	ε > Ae	—	14,0	ε Ae vz	—	31,0	ε	—	35,5	ε	—	33,0
b	5	ε > C	—	14,0	ε	—	34,0	ε	—	38,0	ε	—	33,0
a	6	ε > C	—	21,0	ε	—	25,0	ε	—	30,0	.	.	.
a	7	ε > C	—	20,0	ε C vz	—	37,0	ε	—	49,0	.	.	.
b	8	ε > C	—	16,0	ε	—	34,0	ε	—	38,0	ε	—	33,0
b	9	ε > C	—	12,0	ε C vz	—	35,0	ε	—	36,0	ε	—	26,0
a	10	ε > Ae	—	19,5	ε	—	25,0	ε	—	19,5	.	.	.

Der Versuch zeigt, daß Bact. casei ε bei einem Vorsprung von 5 Stunden vollständig die Oberhand erhalten kann. Selbst bei 30° C dominieren die Milchsäurebakterien gegenüber früheren Versuchen, wo sie mit den Coli-Aerogenes-Bakterien gleichzeitig in den Nährboden gelangten oder einen kürzeren, nur halb so langen Vorsprung bekamen. Bei 38° C finden sich die Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe nur mehr vereinzelt, bei den höheren Temperaturen gar nicht mehr.

Der Versuch zeigt also, daß Bact. casei ε gewisse Vorteile, Begünstigungen, haben muß, um von der Temperatur zwischen gewissen Grenzen unabhängig einen Sieg über die Blähungserreger zu erlangen. Daß auch bei 30—38° C eine kräftigere Vermehrung eingetreten war als in früheren Versuchen, zeigen neben der mikroskopischen Prüfung auch die Säuregrade, wenn wir diese mit den entsprechenden früheren der Tabellen vergleichen. Bact. casei ε hat sich während des fünf-

stündigen Vorsprunges also stark vermehrt, ja selbst mit der Säurebildung hat es begonnen und erlangte auf diese Weise eine präponderierende Stellung. Der Säuregrad der in diesem Versuch benutzten Pepton-Schotten war 3,0 Soxhlet-Henkel-Grade; nach 5 Stunden ergab sich, daß der Säuregrad in Versuch a auf 4,0, in Versuch b auf 3,5 S.-H.-Grade gestiegen war.

Versuch VIII.

Da die Milchsäurelangstäbchen unter anaeroben Verhältnissen besser gedeihen und man solche eigentlich auch im Emmentalerkäse und anderen Käsearten voraussetzen kann, war es von Interesse den Konkurrenzkampf auch unter Sauerstoffabschluß zu beobachten. Die Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe gedeihen, wie J. Kürsteiner[1]) gezeigt hat, auch sehr gut bei anaeroben Verhältnissen, obwohl sie im allgemeinen eine Vorliebe für freien Sauerstoff zu zeigen scheinen. Die Versuchsanordnung ist, abgesehen von den anaeroben Verhältnissen, dieselbe wie in Versuch III, d. h. die Pepton-Schotten wurden gleichzeitig mit einer kleinen Öse Bact. coli resp. aerogenes und einer grossen Öse Bact. casei ε geimpft. Sämtliche Röhrchen wurden nach dem Impfen mit dem Wright-Burrischen Verschluß versehen.

Tabelle XIII.

Nach 24 Stunden. — vz = vereinzelt.

Stamm-Nr.	30° C			38° C			42° C			45° C		
	Mi-krosk.	Gas	S.-Gr.	Mi-krosk.	Gas	S.-Gr.	Mi-krosk.	Gas	S.-Gr.	Mi-krosk.	Gas	S.-Gr.
1	C ε vz	++	11,0	C > ε	+	35,0	C < ε	+	43,0	C < ε	+	34,5
2	C > ε	++	11,5	C = ε	+	26,0	C < ε	+	.	C < ε	+	43,5
3	Ae > ε	++	13,0	Ae = ε	+	28,0	Ae < ε	+	50,0	Ae < ε	+	41,0
4	Ae > ε	++	11,5	Ae = ε	+	29,0	Ae < ε	+	42,0	Ae < ε	±	41,0
5	C > ε ε vz	++	10,0	C > ε	+	31,0	C < ε	+	43,0	C < ε	+	33,0
6	C > ε	++	15,0	C > ε	±	25,0	C < ε	+	45,0	C < ε	±	38,0

Das Ergebnis dieses Versuches überrascht, da, trotzdem von Beginn an B. casei ε infolge der stärkeren Impfung die Übermacht hat und diese — ausgenommen bei den Temperaturen 30 und 38° C — auch im

[1]) J. Kürsteiner, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 1907, **19**, S. 1.

weiteren behält, sich überall Gasbildung zeigt. Frühere gleiche Versuche, aber unter aeroben Verhältnissen (Versuch III), hatten zu einem viel günstigeren Ergebnis geführt. In den folgenden Versuchen sollte nun weiter geprüft werden, ob die anaeroben Verhältnisse wirklich begünstigend auf das Gedeihen und das Gasbildungsvermögen der Blähungserreger gewirkt haben, oder ob sonst irgend welche besondere Umstände die Schuld an diesem Ergebnis trugen.

Versuch IX.

Die Versuchsanordnung ist folgende: Mit der gleichen Öse werden gleichzeitig frische Pepton-Schotten aus einer 24stündigen Bact. coli- bezw. aerogenes- und einer Bact. casei ε-Kultur beschickt. Jede anaerobe unter Wright-Burrischem Verschluß befindliche Coli- resp. Aerogenes- + Bact. casei ε-Mischkultur erhält eine entsprechende aerobe Kontrolle mit gewöhnlichem Watteverschluß. Außerdem wird von den Coli- und Aerogenes-Bakterien auch je eine Reinkultur unter denselben Verhältnissen angelegt.

Zuerst kamen die Stämme Nr. 1—5 zur Untersuchung und einige Tage später mit einem frisch bereiteten Nährboden die Stämme Nr. 6—10. Ich will dies vermerken, da die niederen Säuregrade in den Versuchen mit den ersten fünf Blähungserreger-Stämmen vielleicht auffallen mögen. Die Pepton-Schotten, die bei diesem Versuch benutzt worden sind, waren nämlich infolge von Übersterilisieren stark braun, eine Erscheinung, die erfahrungsgemäß Hand in Hand geht mit einer weniger guten Eignung des Nährbodens für die Entwicklung der Milchsäurebakterien. In dem Versuch mit den Stämmen Nr. 6—10, der mit frischen Pepton-Schotten von strohgelber Farbe angestellt war, zeigt sich auch, daß der Säuregrad gleich mit demjenigen früherer Versuche ist.

Die Versuchsergebnisse der nachstehenden Tabelle scheinen eine Bestätigung des in Versuch VII erhaltenen Ergebnisses zu sein. Ein Vergleich der unter anaeroben Verhältnissen erhaltenen Resultate mit denen der aeroben zeigt nämlich, daß, wenn sich die Blähungserreger unter anaeroben Verhältnissen auch nicht besser vermehren, so doch jedenfalls mehr Gas bilden. Eine Möglichkeit war nun bloß noch auszuschließen, um diese Resultate gänzlich sicher zu stellen, nämlich die Möglichkeit, ob nicht mechanische Ursachen zur Erklärung herangezogen werden müssen, d. h. ob nicht vielleicht durch den anaeroben Verschluß die Entweichung der Gase gehindert ist, was bei dem einfachen Watteverschluß nicht der Fall sein kann. Daß die von dem Nährboden ab-

sorbierten Gase in den Reagenzgläsern, die mit dem Wright-Burrischen Verschluß versehen sind, unter einem Druck stehen, ist gewiß und zeigte sich schon beim Öffnen der Verschlüsse, da sofort die Gasperlen aufstiegen wie beim Öffnen einer Flasche kohlensäurehaltigen Wassers.

Tabelle XIV.

Nach 24 Stunden. — vz = vereinzelt.

	Anaerobe Kulturen						Aerobe Kulturen					
	42° C			45° C			42° C			45° C		
	Mikrosk.	Gas	S.-Gr.	Mikrosk.	Gas	S.-Gr.	Mikrosk.	Gas	S.-Gr.	Mikrosk.	Gas	S.-Gr.
Bact. coli Nr. 1 . .	C	+++	2,5	C	+++	3,0	C	++	1,0	C	—	1,5
Nr. 1 + Bact. casei ε	ε > C	++	18,5	ε > C	++	19,0	ε > C	±	17,5	ε > C	—	12,0
Bact. coli Nr. 2 . .	C	+++	2,0	C	+++	4,5	C	+++	2,5	C	—	0,5
Nr. 2 + Bact. casei ε	ε > C	++	12,0	ε > C	+	10,5	ε > C	—	13,5	ε > C	—	17,5
Bact. aerogenes Nr. 3	Ae	+++	5,5	Ae	+++	3,5	Ae	++	2,5	Ae	—	0,5
Nr. 3 + Bact. casei ε	ε > Ae	++	26,5	ε > Ae	++	16,5	ε > Ae	—	24,5	ε > Ae	—	21,5
Bact. aerogenes Nr. 4	Ae	+++	2,5	Ae	+++	2,0	Ae	+++	3,5	Ae	+	4,0
Nr. 4 + Bact. casei ε	ε > Ae	++	25,0	ε > Ae	++	23,0	ε > Ae	—	27,5	ε > Ae	—	23,5
Bact. coli Nr. 5 . .	C	+++	3,0	C	+	.	C	+	3,5	C	+	2,5
Nr. 5 + Bact. casei ε	ε > C	++	26,5	ε > C	++	21,5	ε > C	—	.	ε > C	—	14,5
Bact. coli Nr. 6 . .	C	+++	11,0	C	+++	12,0	C	+++	15,0	C	—	11,0
Nr. 6 + Bact. casei ε	ε > C	+	51,0	ε > C	+	40,0	ε > C C vz	—	46,0	ε > C C vz	—	51,0
Bact. coli Nr. 7 . .	C	+++	11,0	C	+++	10,0	C	++	12,0	C	—	9,0
Nr. 7 + Bact. casei ε	ε > C	—	48,0	ε > C	±	40,0	ε > C	—	51,0	ε C vz	—	49,0
Bact. coli Nr. 8 . .	C	++	10,0	C	++	11,0	C	±	15,0	C	—	11,0
Nr. 8 + Bact. casei ε	ε > C	++	49,0	ε > C	++	51,0	ε = C	—	56,0	ε > C	—	50,0
Bact. coli Nr. 9 . .	C	+++	7,0	C	+++	7,0	C	±	6,0	C	—	7,0
Nr. 9 + Bact. casei ε	ε > C	+	49,0	ε > C	—	48,5	ε > C	—	46,0	ε > C	—	.
Bact. aerogenes Nr. 10	Ae	+++	10,0	Ae[1]	—	10,5	Ae	—	9,0	Ae	—[1]	5,0
Nr. 10 + Bact. casei ε	ε = Ae	+++	45,0	ε	—	46,0	ε > Ae	—	54,0	ε	—	45,0

[1]) Sehr schwache Entwicklung nach 24 Stunden bei dieser Temperatur.

Aus der Tabelle sehen wir weiter, daß wie oben erwähnt der dunkelfarbige Nährboden für die Entwicklung des B. casei ε nicht günstig war, denn es bildete sich in den Versuchen 1—5 viel weniger Milchsäure als wie in den Versuchen 6—10 mit normalen Pepton-Schotten. Dem entsprechend läßt sich auch feststellen, daß im ersteren Falle auch die Gasbildung kräftiger, also der Kampf für die Coli-Aerogenes günstiger war, wie dies besonders durch Betrachtung der Kolumnen, welche die Ergebnisse mit den anaeroben Kulturen enthalten, ersichtlich wird.

Versuch X.

Dieser Versuch sollte zeigen, ob unter anaeroben Verhältnissen tatsächlich mehr Gas gebildet wird. Die quantitative Bestimmung wurde mit den Burri-Düggelischen Gasbestimmungsröhren ausgeführt. Die anaeroben Verhältnisse wurden dadurch hergestellt, daß der Agarzylinder auf den Pepton-Schotten genau auflag. Freilich mußte die von den Pepton-Schotten absorbierte Luft (bezw. O) vernachlässigt bleiben. Bei den „aeroben" Röhren fixierten wir den Agarzylinder so hoch über dem Niveau der Pepton-Schotten, daß bei einem jeden eine Luftsäule von 12 ccm darüber stand. Coli Nr. 2 und Aerogenes Nr. 4 wurden bei 38°, Coli Nr. 6, Nr. 1 und Bact. Aerogenes Nr. 10 bei 42° C geprüft. Geimpft wurden mit derselben Öse, also je die gleiche Menge.

Versuche		Aerob		Anaerob	
		Coli	C + ε	Coli	C + ε
1	Bact. coli Nr. 2 bei 38° C				
7. X. 1911	nach 16 Stunden Gas in ccm . . .	2,0	2,0	0,25	1,5
	„ 60 „ „ „ „ . . .	6,0	3,25	2,5	2,0
2	Bact. aerogenes Nr. 4 bei 38° C				
7. X. 1911	nach 16 Stunden Gas in ccm . . .	2,0	2,0	1,0	1,0
	„ 60 „ „ „ „ . . .	5,25	3,50	2,5	2,0
3	Bact. coli Nr. 6 bei 42° C				
10. X. 1911	nach 24 Stunden Gas in ccm . . .	4,5	3,0[1]	2,0	3,5[1]
4	Bact. aerogenes Nr. 10 bei 42° C				
10. X. 1911	nach 24 Stunden Gas in ccm . . .	11,0	10,0[1]	8,5	10,5[1]
5	Bact. coli Nr. 1 bei 42° C				
11. X. 1911	nach 24 Stunden Gas in ccm . . .	.	2,5	.	2,5
	„ 48 „ „ „ „ . . .	.	3,25	.	.

[1]) Bact. casei ε entwickelt sich in diesem Versuch sehr schlecht. Im mikroskopischen Präparat zeigt sich Bact. caseï den Blähungserregern gegenüber in geringerer Zahl.

Die Ergebnisse zeigen, daß nicht nur unter anaeroben Verhältnissen keine stärkere Gasbildung stattfindet, sondern daß dieselbe im Gegenteil geringer ist.

Beachtenswert ist, daß sich in den Mischkulturen von Bact. casei ε mit den Blähungserregern nach 16 Stunden in diesem Versuch noch fast genau soviel Gas gebildet hat wie in den Reinkulturen der Gasbildner. In Versuch II fanden wir nach der entsprechenden Zeit schon einen hemmenden Einfluß von seiten der Milchsäurebakterien auf die Gasbildner. Daß dies in diesem Versuch nicht der Fall war, mag vielleicht an der angewandten Temperatur, 38° C (in Versuch II 42° C) oder daran liegen, daß Bact. casei ε aus unbekannten Gründen geschwächt war. Die am folgenden Tage angelegten bei 42° C gehaltenen Kulturen deuteten auf letzteres hin. Daß Bact. casei ε leicht „degeneriert", fand auch Koestler[1]); der Grund dieser Störungen war nicht nachweisbar. Er lag nicht in der Zusammensetzung des Nährbodens, Zahl der Überimpfungen usw.

Nach Verlauf von 60 Stunden änderte sich das Verhältnis. Die Gasmenge in den Mischkulturen stieg wohl auch in den Mischkulturen noch etwas, aber Bact. casei ε bedrängt nun die Blähungserreger doch stark, denn in den Reinkulturen der letzteren ist die Gasmenge um ein Bedeutendes mehr gestiegen.

Versuch XI.

Um nun noch die erwähnten eventuellen mechanischen Ursachen auszuschließen, wurde folgendermaßen verfahren. Ein Teil der Kulturen wurde mit gewöhnlichem Watteverschluß, ein zweiter mit dem Wright-Burrischen Anaeroben-Verschluß und schließlich ein Teil mit Watte und Gummistopfen versehen. Das Resultat folgt in Tabelle XVI.

Wir sehen also, daß die Kulturen mit einem Verschluß, der bloß die Verflüchtigung der Gase hindert, die gleichen Resultate geben wie die unter dem Wright-Burrischen Verschluß gehaltenen Kulturen. Es tragen also unzweideutig nicht die anaeroben Verhältnisse als solche, sondern mechanische Verhältnisse Schuld an der scheinbar größeren Gasbildung.

Wenn wir nun bei Benützung des gewöhnlichen Watteverschlusses bei 42 und 45° C nach 24 Stunden kein Gas in den Pepton-Schotten-

[1]) Koestler, Centralbl. f. Bakteriologie, II. Abt. **19**, 419.

Reagenzgläschenkulturen erhalten, so beweist dieses noch nicht, daß kein Gas gebildet worden ist. Das Gegenteil ist sogar sehr wahrscheinlich, wie folgende Überlegung zeigt.

Werden die Blähungserreger mit den Milchsäurebakterien zusammen verimpft, so entspinnt sich zwischen den beiden eine „Wettproduktion" an Gas bezw. Milchsäure. Je nach den verschiedenen äußeren und den Zellen innewohnenden Umständen wird sich dieser Vorgang eine Zeitlang mit beidseitig gleichem Erfolg oder aber bald mit einem Vorsprung der einen oder der andern Gruppe abspielen. Bei den für Bact. casei ε günstigen hohen Temperaturen von 42 und 45° C, die aber, wie wir wissen, auch für die Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe absolut nicht ungünstig sind, werden sich die Blähungserreger nur eine gewisse Zeitlang gut vermehren und Gas bilden können. Diese Vermehrung

Tabelle XVI.

Nach 24 Stunden. Temperatur 42° C

	Bact. casei ε + Bact. Coli-Aerogenes Nr.:						
	1	2	3	4	5	6	10
Watteverschluß	—	—	—	—	—	±	—[1]
Gummistopfenverschluß . .	+	+	+	+	+	+	—[1]
Wright-Burrischer-Verschluß	+	+	+	+	+	+	—[1]

und die Gasbildung wird dann abnehmen, wenn die bei günstiger Temperatur sich ebenfalls rasch vermehrenden Milchsäurebakterien eine gewisse Menge Säure gebildet haben. Wir sahen oben (siehe Tab. II), daß bei Gegenwart von 0,1 % Milchsäure bereits die Gasbildung, bei 0,2 % sogar die Vermehrung der meisten der untersuchten Gasbildnerstämme eingestellt wird. Die Milchsäurelangstäbchen, speziell Bact. casei ε, sind recht kräftige Säurebildner und es wird je nach den Umständen früher oder später ein Zeitpunkt eintreffen, zu welchem soviel Milchsäure (0,1 %) vorhanden ist, daß die Blähungserreger die Gasbildung und bald darauf auch die Vermehrung einstellen. (Aus Tabelle VII sehen wir ja auch, daß in den Mischkulturen C + ε nach 24 Stunden nur mehr eine unbedeutende Menge Gas gebildet wird). Da nach 24 Stunden bei 42—45° bis zu 0,5—1,0 % Milchsäure gebildet

[1]) Schlecht zur Entwicklung gelangt, kaum eine Trübung.

werden kann, mag der Punkt, da die auf die Gasbildung hemmend wirkende Milchsäuremenge fertig ist, zumeist recht früh einfallen. Die verhältnismäßig geringe vor diesem Zeitpunkt gebildete Gasmenge verflüchtigt sich durch den Watteverschluß und entgeht der Beobachtung, falls ihr Entweichen nicht durch einen über dem Wattestopfen angebrachten Gummistopfen verhindert wird.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Ein Milchsäurezusatz von 0,1—0,2 % zum Nährboden (Pepton-Schotten) unterdrückt die Gasbildung bei den meisten der untersuchten Coli-Aerogenes-Stämme, jedoch nicht das Vermehrungsvermögen. Bei Gegenwart von 0,3 % Milchsäure findet aber nur noch ausnahmsweise eine Vermehrung statt.

2. Bact. casei ε ist, weil selbst ein Säurebildner, viel weniger empfindlich gegen Säure, da er sogar noch in 0,5 %igen Milchsäure-Pepton-Schotten der Vermehrung fähig ist.

3. Stehen sich ungefähr die gleichen Mengen von Milchsäurebakterien und Gasbildnern im genannten Nährboden gegenüber, so spielt sich ein harter Kampf ums Dasein zwischen ihnen ab, dessen Ausgang hauptsächlich von der herrschenden Temperatur abhängig ist. Bei 30° C ist nach 24 Stunden der Erfolg vollständig auf Seite der Gasbildner und auch bei 38° haben diese nach genannter Zeit noch die Übermacht. Am schärfsten ist der Konkurrenzkampf bei 42 und 45° und entscheidet sich hier bald zugunsten der einen, bald zugunsten der andern Gruppe.

4. Sind die Coli-Aerogenes-Bakterien von Beginn an in etwas geringerer Menge anwesend als die Milchsäurebakterien, so spielt bei der Entscheidung des Kampfes wieder hauptsächlich die Temperatur eine Rolle.

Bei 30° kommen die Gasbildner immer obenauf, während sich Bact. casei ε nur schlecht entwickelt.

Bei 38° kommt Bact. casei ε wohl gut zur Entwicklung, doch haben die Gasbildner die Übermacht und es wird immer noch viel Gas gebildet.

Bei 42 und 45° werden die Coli-Aerogenes-Bakterien von den Milchsäurebakterien meist unterdrückt und es kommt nur ausnahmsweise vor, daß sie auch bei diesen Temperaturen Gas bilden.

5. Bringt man, bei ungefähr gleicher Impfmenge für die beiden Konkurrenten, Bact. casei ε 2½ Stunden früher in den Nährboden als wie die Gasbildnerstämme, so ist es den letzteren nur noch bei 30° möglich die ersteren zu überholen. Bei den übrigen Temperaturen hat Bact. casei ε stark die Übermacht oder es kommen die Gasbildner sogar nur vereinzelt oder gar nicht mehr zur Vermehrung und gleichzeitig ist auch die Gasbildung unterdrückt.

6. Ist der Nährboden, in welchem sich der Konkurrenzkampf abspielen soll, schon ursprünglich stark sauer (0,27% Milchsäure) und verschafft man Bact. casei ε einen Vorsprung von 2½ Stunden, so entwickelt er sich auch bei 30° in der Übermacht und vermag selbst bei dieser Temperatur die Gasbildung zu unterdrücken.

7. Dieselbe Überlegenheit der Milchsäurebakterien über die Gasbildner kann erzielt werden, wenn man auf die unterstützende Wirkung des stark sauren Nährbodens verzichtet, dafür aber den Vorsprung in der Entwicklung für Bact. casei ε von 2½ Stunden auf 5 Stunden ausdehnt. Unter diesen Bedingungen erlangt Bact. casei ε selbst bei 30° eine dominierende Stellung und die Gasbildung unterbleibt bei dieser wie bei allen höheren Temperaturen.

8. Die einzelnen Coli-Aerogenes-Rassen weisen in diesen Versuchen keine hervorragenden Unterschiede bezüglich ihrer „Kampffähigkeit“ gegenüber den Milchsäurebakterien auf.

Referate.

I. Gärungsphysiologie und allgemeine Mykologie.

Halenke und Krug. Vergleichende Versuche über den Säurerückgang in ungezuckerten und gezuckerten Weinen des Jahrgangs 1910 aus dem Weinbaugebiet der Pfalz. (Mitteilung der Landwirtschaftlichen Kreis- und Versuchs-Station und Öffentlichen Untersuchungsanstalt für Nahrungs- und Genußmittel zu Speyer). Pfälzische Wein- und Obstbau-Zeitung, 1912, Nr. 3, S. 17.

Wie in den Jahren 1908 und 1909 haben die Verf. zum Studium des Säurerückganges ein Ausgangsmaterial verwendet, das besonders geeignet zur Lösung dieser Frage war, weil der zur Versuchsanstellung benützte Most des unreifen Jahrganges 1910 den hohen Säuregehalt von 21,19 pro Mille besaß. Nach wenigen Tagen war die Gesamtsäure des Mostes infolge Weinsteinausscheidung bis auf 19,91 pro Mille zurückgegangen. Als wesentliches Ergebnis der 1910er Versuche konnte folgendes festgestellt werden: Sowohl die Naturweine, wie auch die zu Beginn des Herbstes gezuckerten Weine zeigen im Gegensatz zu den 1908er und 1909er Versuchen in dem ersten Stadium ihrer Entwickelung keinerlei nennenswerte Säureabnahmen. Dagegen trat bei den Mitte Dezember 1911 umgegorenen Weinen schon bald nach der Aufzuckerung ein sehr weitgehender und bemerkenswerter Säurezerfall ein, indem unter Bildung erheblicher Mengen von Milchsäure (etwa 7,0 pro Mille) die ursprüngliche Mostsäure von 21,19 pro Mille auf 9,1 bez. 10,15 pro Mille zurückgegangen ist, mithin eine Säureverminderung von 12,09 bez. 11,04 pro Mille stattfand. Dieses Ergebnis ist deshalb von großer praktischer Bedeutung, weil es beweist, daß selbst außergewöhnlich saure Moste bei einer Zuckerung im Rahmen der gesetzlichen Grenzen noch zu trinkbaren und wirtschaftlich verwertbaren Weinen verbessert werden können. Weiterhin ergeben die Versuche, daß ein später Abstich, namentlich aber auch das Aufrühren der Hefe den Säureabbau außerordentlich befördert, während ein starkes Schwefeln beim Abstiche der Weine den Säurezerfall nicht nur hemmt, sondern ihn fast völlig unterdrückt. Was das Verhalten der Milchsäure beim Lagern des Weines betrifft so konnte bei den diesjährigen Versuchen nur eine unbedeutende Abnahme der Milchsäure beobachtet werden. Schließlich ist noch darauf hinzuweisen, daß die Versuche bei einer niederen Kellertemperatur zur Durchführung kamen. Da nun nach

anderen Beobachtungen eine Lagerung in einem auf etwa 15 Grad Cels. erwärmten Keller von ausschlaggebender Bedeutung für den Eintritt des biologischen Säurerückganges ist, so erscheint es nicht ausgeschlossen, daß die geringe Neigung der 1910er Jungweine zum Zerfall der Äpfelsäure in der ersten Zeit ihrer Entwickelung auf diesen Umstand zurückzuführen ist.

Meissner.

Zur Behandlung der 1911er Weine. (Mitteilung der K. Lehr- und Versuchsanstalt für Wein- und Obstbau in Neustadt a. d. H. 27. Februar 1912). Das Weinblatt, 1912, Nr. 9, S. 36.

Die 1911er Weine, welche sich durch ein normales, stellenweise hohes Öchslegewicht bei niederem Säuregehalt auszeichnen, verlangen eine vorsichtige Kellerbehandlung, wenn man vollwertige Produkte erzielen will. Bisweilen zeigen diese Weine die unangenehme Eigenschaft, daß sie sich kurz nach dem Filtrieren wieder trüben und umschlagen, und zwar besonders bei solchen Weinen, die sich durch einen sehr niederen Säuregehalt auszeichnen. Die Trübungen können sehr verschiedener Art sein. Oft werden sie durch die Entwickelung von Bakterien hervorgerufen, wodurch eine bläulich schimmernde (opalisierende) Trübung entsteht. Diese Art der Trübung kann dadurch verhindert werden, daß man die Entwicklungsfähigkeit der Bakterien durch geeignete kellerwirtschaftliche Maßnahmen — Verschnitt mit säurereicherem Wein, starkes Einbrennen — beeinträchtigt. Bereits vorhandene Trübungen müssen dann noch durch Filtration entfernt werden.

Meissner.

Holm, J. Eine Methode zum Nachweis von Mykoderma und mykodermaähnlichen Mikroorganismen in Brennereien und Hefefabriken. Brew. Journ. 1911, **47**, S. 248.

Die Methode basiert auf der Anlage von Oberflächenkulturen. Verf. entnimmt der zu untersuchenden Hefe kleine Probeanteile und verteilt sie in Wasser. Von dieser Suspension legt er nach Koch Verdünnungen an und benutzt die zweite Verdünnung zur Anlage von Oberflächenkulturen auf Würzegelatine, indem er auf die erstarrte Gelatine eine bestimmte Menge der Suspension aufgießt. Hierauf läßt er die Flüssigkeit einige Zeit über der Gelatine stehen, gießt den Überschuß derselben ab und bringt die Platte bei 25—27° in den Thermostaten. Nach ein bis zwei Tagen werden die einzelnen Kolonien untersucht und die Mykodermakolonien an ihren breiten und flachen Belägen von den Hefen unterschieden.

Zikes.

Kaiser, E. Über den Bierhefensaft. Compt. rend. de l'Acad. des scienc., 1911, t. 152, S. 1279.

Verf. hatte schon früher (s. Bd. 144) im Vereine mit Marchand gefunden, daß die Mangansalze die Wirkung der alkoholischen Fermente begünstigen und die Alkoholausbeute steigern. Verf. hat nun dieselben Salze in ihrer

Wirkung auf den Lebedeffschen Hefesaft studiert. Er verglich die Manganphosphate und Nitrate mit den gleichlautenden Kaliumsalzen und fand, daß die Mangansalze auch hier ähnlich wie Kaliumphosphat eine recht günstige Wirkung ausüben. Kaiser erhielt die wirksamsten Säfte aus Hefe, welche 35—40 Stunden bei 25° gehalten, dann getrocknet und mit 3 Teilen Wasser mazeriert wurde. Eine solche Hefe lieferte Säfte, welche in 60 %igen Zuckerlösungen oft nach 5 Minuten schon Gasentwicklung aufwiesen. Zikes.

Young, J. Über die Zusammensetzung der durch Hefepreßsaft gebildeten Hexosephosphorsäure. Bioch. Ztschr., 1911, Bd. 32, S. 177.

Die Hexosephosphorsäure, welche bei der Einwirkung von Zymase auf Glukose, Mannose und Fruktose in Gegenwart von Phosphaten erhalten wird, besitzt nach Angabe des Verf. die Formel $C_6H_{10}O_4(PO_4H_2)_2$.

Zikes.

Lebedeff, A. Über den Mechanismus der alkoholischen Gärung. Compt. rend. de l'Acad. des scienc. Paris, 1911, t. 153, S. 136.

Nach Versuchen des Verf. bildet sich, welches Mono- oder Disaccharid auch verwendet wird, stets der gleiche Phosphorsäureester $C_6H_{10}O_4(H_2PO_4)_2$. Verf. meint, daß die Hexose direkt oder nach Spaltung des Disaccharides bis zu einer Triose zersetzt wird, die sich mit der Phosphorsäure zu dem Ester $C_3H_5O_2PO_4$ verbindet, welcher sich augenblicklich zu dem Ester $C_6H_{10}O_4(H_2PO_4)_2$ kondensiert. Zikes.

Takahashi, T. and Sato, H. Some new Varieties of Willia anomala as Aging Yeast of Saké. Sep. Abdruck aus The Journ. Coll. Agric., Tokyo, 1911, Vol. I, Nr. 3, S. 227—268.

Verfasser fanden 4 Varietäten von Willia anomala, welche sich nach ihrer Ansicht bei der Reifung des japanischen Nationalgetränks Saké, beteiligen sollen. Im ersten Teil der Arbeit sind die morphologischen und physiologischen Eigenschaften der isolierten Hefen ausführlich beschrieben; besonders erwähnenswert ist es, daß sie nicht nur aus Kohlenhydraten, sondern auch aus Alkohol und organischen Säuren Ester bilden können. Die Fruchtesterbildung in buttersaures Ammon enthaltenden Lösungen zeigt uns, daß dieses Salz bei der Sakébereitung eine wichtige Rolle spielt.

Im zweiten Teil der Abhandlung berichten die Verf. über die Anwendung der reinkultivierten Willia-Hefen zur künstlichen Reifung des Saké. Die Versuche gelangen mit gutem Erfolge. K. Saito.

Takahashi, T. and Sato, H. The Quantity of Amino-acids and its Relation to the Quality of Saké. Sep.-Abdruck aus The Journ. Coll. Agric., Tokyo, 1911, Vol. I, Nr. 3, S. 269—274.

Aus der chemischen Analyse von ungefähr 100 Mustern schließen die Verf., daß die besseren Saké im allgemeinen nur kleinere Mengen Aminosäure (als Glykokoll berechnet) enthalten. K. Saito.

Takahashi, I. and Yamamoto, T. The Assimilation and Formation of Amino-acids by Saccharomyces Saké and other Yeast Varieties. Sep.-Abdruck aus The Journ. Coll. Agric., Tokyo, 1911, Vol. I, Nr. 3, S. 275—281.

In bezug auf die Assimilierbarkeit der Aminosäuren verhalten sich die verschiedenen Hefen ungleich. Die Verf. schlagen vor, für die Sakébereitung eine solche Hefe auszuwählen, die eine möglichst große Menge von Aminosäuren assimiliert, dagegen nur sehr kleine Mengen Fuselöl bildet.

In den Kulturen von einigen Varietäten der Sakéhefe und von Rosahefe fand eine Zunahme der Aminosäuren und gleichzeitig Fuselölbildung statt; die Quantität der gebildeten Aminosäure steht aber in keinem Verhältnis zu dem anderen Produkte. K. Saito.

Takahashi, T. Mikroorganismen in der Maische und der „chinesischen Hefe“ des chinesischen alkoholischen Getränks, Schao-hing-chew. (Vorläufige Mitteilung, japanisch). Mitteilungen aus der Kaiserl. Untersuchungsanstalt für Gärungsgewerbe, 1912, Nr. 43, S. 1—46.

Seit der Referent über die Schimmelpilze der „chinesischen Hefe“, welche zur Bereitung des Schao-hing-chew dient, berichtet hatte, fand dieses Getränk bisher keine weitere Untersuchung. Die vorliegende Arbeit enthält nun die Beschreibung der Hefen, welche der Verf. in der Maische und der zur Herstellung dieses Getränkes dienenden chinesischen Hefe gefunden hat. Er gibt eine ausführliche Schilderung der morphologischen und physiologischen Eigenschaften der isolierten Arten an, die er vorläufig Saccharomyces Schao-hing (I—VIII) und Zygosaccharomyces Schao-hing (I—IV) nannte. Außerdem fand er noch einige Rassen von Willia anomala vor. K. Saito.

Euler, H. und Kulberg, S. Über die Wirkungsweise der Phosphatese. Ztschr. phys. Chem. 1911, Bd. 74, Heft 1.

Die Verf. beschäftigen sich in dieser Arbeit mit der Phosphatese der Hefe und der von Asperg. niger. Die wichtigsten Resultate sind: Sowohl die Phosphatese der Hefe wie die von Asp. niger bauen Zuckerphosphorsäureverbindungen auf. Die Phosphatese ist etwas labiler als die Invertase. Sie wird durch $^1/_2$ stündiges Erwärmen auf 60^0 C in neutraler, wässeriger Lösung fast vollständig zerstört; am kräftigsten wirksam ist sie in alkalischer Lösung. An der Esterbildung sind wahrscheinlich 2 Enzyme beteiligt, ein Enzym, das aus dem ursprünglichen Zucker das esterbildende Kohlehydrat erzeugt, und ein zweites Enzym, die Phosphatese im engeren Sinne, welches aus dem gebildeten Kohlehydrat und Phosphorsäure den Phosphorsäureester entstehen läßt. Zikes.

Neuberg, C. und Karczag, L. Karboxylase, ein neues Enzym der Hefe. Bioch. Ztschr., 1911, Bd. 36, S. 68.

Verf. fanden in dieser Arbeit, daß sowohl freie Brenztraubensäure wie Oxymaleinsäure (Oxalessigsäure) zu CO_2 und Azetaldehyd vergoren werden,

z. B.: $CH_3\,CO\,COOH = CO_2 + CH_3\,COH$. Der Azetaldehyd kann hierbei schon an dem Geruche erkannt werden, was bei früheren Versuchen, als die Salze der Brenztraubensäure vergoren wurden, nicht möglich war, denn hier entstand nach dem Schema: $2\,CH_3\,CO\,COOK + H_2\,O = 2\,CH_3\,COH + CO_2 + K_2\,CO_3$, wobei der entstandene Aldehyd zu Aldol kondensierte. Als günstigstes Mengenverhältnis der Brenztraubensäure erkannten sie 1:100, also 1prozentige Lösungen. Da es den Verf. gelang, auch mit abgetöteter Hefe diese Reaktion durchzuführen, so sehen sie als Ursache dieser Zersetzung ein neues Hefeenzym, welches sie Karboxylase nannten, an. Zikes.

Neuberg, C. und Karczag, L. Zur Kenntnis der Karboxylase. Bioch. Ztschr., 1911, Bd. 36, S. 76.

In dieser Arbeit beschäftigen sich die Verf. mit der Verbreitung der Karboxylase, mit der Schnelligkeit der Karboxylasewirkung, mit der Empfindlichkeit der Karboxylase und mit der Stellung der Karboxylase zu anderen Hefeenzymen. Sie fanden dieses Enzym bei fast allen überprüften Hefen, ebenso auch bei dem Azetondauerpräparat Hefanol. Die Wirkung des Enzyms ist eine sehr rasche und läßt sich ganz gut mit der von Zymase vergleichen, wie korrespondierende Versuche mit Brenztraubensäure und mit Glukose zeigten. Gegen freie Säuren scheint das Enzym empfindlicher zu sein wie gegen deren Salze. Zikes.

II. Landwirtschaftliche und technische Mykologie.

Fleischmann, Fr. Veränderungen, welche bei der Dürrheubereitung im Grase vor sich gehen. Landw. Vers.-Stat. 1912, **76,** S. 237—447.

Durch zahlreiche Versuche wird erwiesen, daß das Trocknen des Grases (im „Schwad") stets mit Trockensubstanz-Verlusten verknüpft ist, die hauptsächlich durch Veratmung von Saccharose und Dextrose in den Blattzellen zustande kommen. Ein Teil des Eiweißes wird zu Amiden abgebaut; auch das Rohfett erfährt eine Verminderung. Mikrobentätigkeit kommt dabei kaum oder nicht in Frage. Auch in den unter ungünstigen Bedingungen trocknenden, stark schimmelnden Grasproben traten die hierdurch veranlaßten Substanz-Verminderungen gegenüber den Atmungsverlusten weit zurück. Dagegen sind allerdings Bakterien für die Zersetzung des Lezithins verantwortlich zu machen, das entweder schon während der Trocknung oder doch während der Lagerung zum größten Teile verschwindet. Löhnis.

Cohendy, M. Expériences sur la vie sans microbes. Ann. de l'Instit. Pasteur. 1912, **26,** S. 106—137.

Über die Haupt-Ergebnisse der seit 1908 zuerst bei Schottelius, später bei Metschnikoff durchgeführten Untersuchungen wurde bereits (S. 183) nach einer andern Quelle referiert. Die dort nicht angegebene Nahrung der

Versuchstiere bestand aus mit Fleisch und Eiern vermischtem Körnerfutter. Gegen Infektionen (mit B. coli und subtilis) erwiesen sich die sterilen Hühnchen sehr empfindlich. Verf. zieht aus seinen Beobachtungen den Schluß, daß die normale Darmflora den Tieren nicht unentbehrlich, aber doch nützlich sei. Wegen der Einzelheiten der Methodik muß auf den mit Abbildungen versehenen Originaltext verwiesen werden. Löhnis.

Kinyoun, J. J., and Deiter, L. V. A bacteriological study of the milk supply of Washington D. C. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 1912, **34**, S. 70.

Die 14 Monate hindurch fortgeführten Prüfungen ergaben ziemlich ungünstige Resultate. Der durchschnittliche Keimgehalt der nach Washington gelangenden Milch stellte sich auf 9,3 Millionen, keine Probe enthielt weniger als 1 Million. Auch die Untersuchung der pasteurisierten Handelsmilch lieferte wenig befriedigende Befunde. Gewinnung wie Behandlung der Milch bedarf noch sehr der Verbesserung. Löhnis.

Ruehle, G. L. The principle of vacuum cleaning as applied to dairy cows. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 1912, **34**, S. 71—72.

Wurden die Kühe statt mit der Hand mittels des Staubsaugapparates gereinigt, so wurde der Keimgehalt der Milch nicht, wie zu erwarten gewesen wäre, im günstigen, sondern im ungünstigen Sinne beeinflußt. (Eine Nachprüfung der übrigens nur in relativ kleiner Zahl durchgeführten Versuche dürfte angezeigt sein.) Löhnis.

Schern, K. und Schellhase, W. Beitrag zur Kenntnis der Guajak-Guajakol-Probe. Berl. tierärztl. Wochenschr. 1912, **28**, S. 221—223.

Gekochte Milch gab, auch wenn sie mehrere Tage offen stehen blieb, keine Blaufärbung bei der Prüfung mit Guajak-Guajakol-Mischung. Da aber nach O. Jensen manche Bakterien Peroxydase produzieren, muß immerhin diese forensisch wichtige Möglichkeit im Auge behalten werden. Ein Zusatz von 0,5% 3proz. Perhydrol zur Guajak-Guajakol-Lösung erscheint angezeigt. Löhnis.

Rievel. Der Wert der Guajaktinkturprobe zur Unterscheidung roher und erhitzter Milch. Deutsche tierärztl. Wochenschr. 1912, **20**, S. 161—162.

Entgegen Tewes' Angaben ist die Guajakprobe bei Benutzung einer gut wirkenden Tinktur als zuverlässig anzusehen. Löhnis.

Hohenadel, M. Yoghurt-Trockenpräparate. Pharmaz. Ztg. 1912, **57**, S. 218—219.

Im Gegensatz zu fast allen anderen Autoren hat Verf., der für die gute Beschaffenheit von Dr. Trainers Yoghurt-Tabletten und Yoghurt-Ferment verantwortlich ist, in diesen wie in andern Handelspräparaten stets einen normalen Mikroben-Bestand nachweisen können. Hefen sollen nach

Verf.s Meinung in gutem Yoghurt nicht vorkommen; B. bulgaricus wurde noch in mehr als $1^1/_2$ Jahr trocken aufbewahrtem Material lebenskräftig vorgefunden. Die ausführliche Schilderung der benutzten Methodik bringt nichts Neues. Löhnis.

Gratz, O. Die Verfolgung der Proteolyse im Käse mittels der Formoltitrierung. Ztschr. für Unters. d. Nahrgs.- und Genußmittel 1912, **23**, S. 379—384.

Die von S. P. L. Sörensen[1]) ausgearbeitete Methode erweist sich, wie Verf. an einer Reihe von Beispielen zeigt, bei der Bestimmung des „Zersetzungs-Stickstoffs“ im reifenden Käse als wertvolle Ergänzung des Fällungs-Verfahrens (mittels Phosphorwolframsäure). Vor diesem hat sie den Vorzug größerer Einfachheit und leichterer Durchführbarkeit. Speziell scheinen auch die einzelnen Stadien der Formoltitrierung gute Einblicke in Art und Verlauf des Käsestoffabbaues in den verschiedenen Käsesorten zu erschließen. Löhnis.

Gratz, O. und Rácz, L. Studien über die Bakterienflora des Brinsen- oder Liptauer Käses. Centralbl. f. Bakt. II. Abt. 1912, **33**, S. 401—407.

Bei der Herstellung des Liptauer Käses wird Schafmilch (selten Kuhmilch) unter Benutzung von mit etwas Weinessig hergestelltem Naturlab dickgelegt, der Bruch bis zu Hirsekorngröße verrührt, unter den Molken zu Kugeln zusammengedrückt, im Käsetuch 1—2 Tage (zum Ablaufen der Molke) aufgehängt und dann auf Regalen in den Schäferhütten bis zu der meist am Ende der Woche erfolgenden Ablieferung an die Käsefabrikanten ohne weitere Behandlung aufbewahrt. Beim Fabrikanten kommen die Käse in Bottiche, wo sie gelinde gepreßt und wiederholt umgelegt werden. Nach zirka 10 Tagen entfernt man die Rinde, mahlt und salzt den Teig, der in Fäßchen zum Versand gebracht und ziemlich rasch verbraucht werden muß, da er später scharf und bitter wird. Aus der von fettzersetzenden Penicillien und Oidien, sowie von eiweißlösenden Hefen durchsetzten Rinde wird ein dem Roquefort in Geruch und Geschmack ähnlicher, aber streichfähiger Käse bereitet.

Zunächst wurden die 8—10 Tage alten Käse der bakteriologischen Untersuchung unterworfen. Zur Isolierung diente Pepton-Käse-Agar (nach Boekhout), das bei 30° C aufbewahrt wurde. Im Innern von 11 Käsen wurden gefunden: Bact. Güntheri (11 mal), B. casei (10 mal), Micr. casei acido-proteolyticus I (5 mal), Micr. casei acido-proteolyticus II (5 mal), indifferente Kokken (5 mal), Sporenbildner (7 mal), nicht sporenbildende, peptonisierende Bakterien (5 mal), Oidium lactis (3 mal), indifferente Hefen (3 mal), Actinomyces odorifer (1 mal). Dagegen zeigten 6 Rindenproben folgenden Bestand: Bact. Güntheri (6 mal), Bac. casei (2 mal), Micr. casei acido-proteo-

[1]) Biochem. Zeitschr. **7**, 1908, S. 45.

lyticus I (2 mal), Micr. casei acido-proteolyticus II (2 mal), indifferente Kokken (2 mal), Tyrothrix-Arten (3 mal), nicht sporenbildende, peptonisierende Bakterien (3 mal), indifferente Bakterien (2 mal), Oidium lactis (2 mal), indifferente Hefen (2 mal), Actinomyces odorifer (2 mal).

Über die Beteiligung der verschiedenen Organismen am Reifungsprozeß und über die Mikroflora des fertigen Käses wird weiterhin zu sprechen sein.

Löhnis.

Hesse, A. Untersuchungen von Reinkulturen für die Ansäuerung des Rahmes durch die Katalase-Bestimmung. Molk.-Ztg. Hildesheim 1912, **26,** S. 375—376, 399—400.

Da die echten Milchsäurebakterien das Wasserstoffsuperoxyd nicht zersetzen, gestattet die Katalaseprobe eine Prüfung der im praktischen Betrieb benutzten Kulturen, die das Ergebnis der Geschmacks-, Geruchs- und Säureprüfung in erwünschter Weise ergänzt. Auf Grund seiner Versuche gelangt Verf. zu dem Schluß, daß gutes Sauer stets weniger als 2 ccm Sauerstoff (pro 15 ccm Milch) liefern soll. Hohe Katalasewerte deuten auf schlechte Sauer-Beschaffenheit hin. Eine nähere bakteriologische Behandlung dieser Frage erscheint angezeigt.

Löhnis.

Oettinger, W. Die bakteriologische Kontrolle von Sandfilteranlagen. Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankheiten 1912, Bd. 71, Heft 1, S. 1.

Verf. bespricht in seiner umfangreichen Abhandlung zunächst eingehend die bisher veröffentlichten Versuche und Beobachtuugen über die Sandfiltration von Oberflächenwasser, soweit sie sich auf den Filtrationsvorgang selbst beziehen, um dann auf Grund jahrelanger Beobachtungen an der Breslauer Sandfilteranlage darzutun, welche Faktoren die Filtration speziell dieser Anlage zu beeinflussen pflegen und welcher Filtrationseffekt bei der jeweiligen Beschaffenheit des Rohwassers günstigstenfalls erwartet werden kann. In einem dritten Abschnitt werden die zur Kontrolle der Sandfilteranlagen gebräuchlichen Methoden einer Kritik unterzogen.

Verf. kommt zu folgenden Schlüssen: Die experimentell gestützten Anschauungen Fränkels und Piefkes über das Wesen und die Leistungsgrenzen der Sandfiltration sind auch durch die späteren Versuche und Erfahruugen nicht widerlegt worden. Auch bei durchaus fehlerfreien Betriebseinrichtuugen und vorsichtiger Handhabung ist in manchen Werken die Filtrationswirkung unvollkommen. In der Breslauer Anlage ist die Beschaffenheit des Rohwassers daran schuld, insbesondere sein Mangel an Stoffen, die zur Bildung einer wirksamen Deckschicht geeignet sind. Dieser Mangel macht sich besonders in der kalten Jahreszeit geltend, wenn auf den Filtern eine Vermehrung dieser Stoffe nicht stattfindet. Für solche Werke ist eine Filterkontrolle durch Keimzählung nicht ausreichend. Hier bedarf es eines Verfahrens, das Aufschluß darüber gibt, ob eine erhöhte Keimzahl im Filtrat auf einen vermehrten Durchtritt von Rohwasserkeimen oder auf ein ver-

mehrtes Ausspülen von harmlosen Filterkeimen zurückzuführen ist. Zur Entscheidung hierüber eignet sich die Zählung der Colibazillen mit Hilfe des Marmannschen Verdunstungsverfahrens. Unter Anwendung dieser Methode wurde nachgewiesen, daß die winterliche Keimsteigerung im Filtrat des Breslauer Werks eine Folge abnormer Filterdurchlässigkeit ist und die Keimsteigerung im Oderwasser sehr wahrscheinlich auf verunreinigende Zuflüsse von der Bodenoberfläche zurückzuführen ist. A. Müller.

Guth, F. und Feigl, J. Über den Nachweis und die Wirkung von Fermenten im Abwasser. Gesund. Ing. 1912, Jahrg. XXXV, Nr. 2, S. 21.

Die in Abwässern vorhandenen Fermente sind teilweise mit den Abfallstoffen dem Abwasser zugeführt, teilweise werden sie durch die zahlreichen, sich üppig vermehrenden Bakterien dauernd neu erzeugt. Die Verf. haben die Zahl und soweit möglich auch die Mengen der in Abwässern verschiedener Beschaffenheit und in den Abflüssen und dem Schleimbelag biologischer Körper nachweisbaren Fermente ermittelt und ihre Beeinflussung durch Fäulnisvorgänge, Zugabe von Desinfektionsmitteln usw. geprüft. Die Hauptergebnisse haben Verf. wie folgt zusammengefaßt. In rohen und vorgefaulten häuslichen Abwässern sind in erster Linie solche Fermente vorhanden, die den Abbau hochmolekularer ungelöster bezw. pseudogelöster Substanzen in gelöste vollziehen. Diastase, Trypsin, Pepsin, Lipase sowie Disaccharidfermente sind fast stets, anscheinend in direkter Proportionalität zur Konzentration nachweisbar. Diastase überwiegt in allen Fällen ganz erheblich. — Eine Steigerung der Abbauvorgänge tritt nur dann ein, wenn außer ständiger Zufuhr neuer Fermente bezw. Bakterien gleichzeitig Entfernung der Stoffwechselprodukte statt hat. Während durch Anhäufung fäulnisfähiger Massen zunächst die Fermente angereichert werden, bedingt längeres Verweilen faulenden Abwassers in geschlossenen Behältern eine Verminderung derselben. Es gibt sonach ein individuell verschiedenes Optimum für die Durchflußzeit im Betriebe von Faulbecken.

Desinfektion mit üblichen Chlorkalkmengen schädigt zwar wesentlich die einem Abwasser innewohnenden Fermentkräfte, vernichtet sie aber nicht. Nitratzusatz bewirkt besonders bei stickstoffhaltigen Substanzen Oxydation der Fäulnisprodukte und fördert dadurch den fermentativen Abbau.

In gut gereinigten Abflüssen von Oxydationskörpern sind Fermente nur in Spuren nachzuweisen, in der die Brocken umgebenden Schleimschicht sind sie dagegen angereichert. A. Müller.

Kausch, O. Die im Jahre 1911 in Deutschland patentierten Neuerungen auf dem Gebiete der Wasserreinigung. Das Wasser 1912, 8, Heft 3, S. 78, Heft 4, S. 108, Heft 5, S. 141, Heft 6, S. 170.

Es werden 36 Patente aufgeführt und zum Teil an der Hand von Zeichnungen eingehend erläutert. A. Müller.

Purvis, T. E., Mac Hattie, A. C. N., Fisher, R. H. W. Non-Nitrification of Sewage in Sea-Water. The Contract Journal 1911, LXV, 1679, 275. Ref. Gesundh.-Ing. 1912, **35**, 4, 67.

Die Versuche der Verf. zeigten, daß sich in einer Mischung von 1 Teil Abwasser und 9 Teilen Seewasser nach 70 Tagen noch kein Nitrat gebildet hatte, obwohl der Luftzutritt ein reger war. Der Gehalt an Ammoniak dagegen hatte eine erhebliche Zunahme erfahren. Den Befunden von Purvis, MacAllister und Minnett entsprechend vermögen also die nitrifizierenden Bakterien den Salzgehalt des Meerwassers nicht zu ertragen. Der Abbau der organischen Substanzen bis zur Ammoniakbildung findet unverzögert statt, die Oxydation des abgespaltenen Ammoniakstickstoffs bleibt aber gänzlich aus, woraus sich ergibt, daß Seewasser trotz hohen Ammoniakgehalts durchaus nicht übermäßig verschmutzt zu sein braucht. A. Müller.

River Waters of the United States. The Surveyor 1912, Vol. XLI, Nr. 1042.

In dem Bericht Nr. 236, Part. I der United States Geological Survey sind von den bedeutendsten Flüssen der östlichen Hälfte der Vereinigten Staaten die Ergebnisse zahlreicher zu den verschiedenen Jahreszeiten ausgeführter Wasseranalysen veröffentlicht und graphisch veranschaulicht worden. Der vorliegende Artikel gibt die Resultate, soweit sie die gelösten und suspendierten Bestandteile betreffen, wieder. A. Müller.

Missong, J. Das Missongfilter. Journ. f. Gasbel. u. Wasservers. 1912, **55**, 11, 254.

Verf. beschreibt eingehend ein von ihm konstruiertes drehbares, geschlossenes Feinsandfilter mit parallel zur Drehachse angeordneten ebenen Sieben. Mit diesem Filter in Höchst a. M. angestellte Filtrierversuche haben, wie aus den erhaltenen Keimzahlen zu ersehen ist, durchaus befriedigende Resultate ergeben. A. Müller.

Müller, Arno. Die Abhängigkeit des Verlaufes der Sauerstoffzehrung in natürlichen Wässern und künstlichen Nährlösungen vom Bakterienwachstum. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte 1911, XXXVIII, 3, 294.

Verf. sucht eine Klärung der bei der Sauerstoffzehrung in Frage kommenden biologischen Vorgänge dadurch herbeizuführen, daß er zunächst Zehrungsversuche mit Bakterienreinkulturen in sterilen Lösungen bekannter Zusammensetzung durchführt, in denen die Entwicklung der betreffenden Bakterienart und der Verlauf der durch sie bedingten Sauerstoffzehrung genau verfolgt wird. Zu den Versuchen wurden außer natürlichen Wässern Bac. fluorescens liquefaciens und Bacterium coli, sowie Gemische beider Bakterienarten verwendet. Von weiteren Versuchen, die ursprünglich vorgesehen waren, mußte zunächst Abstand genommen werden. Die mitgeteilten Versuche, auf deren Einzelergebnisse im Rahmen eines Referates ein-

zugehen nicht angängig ist, haben teils bereits bekannte Beziehungen zwischen Sauerstoffzehrung und Bakterienwachstum bestätigt, teils interessante neue aufgedeckt, wenn sie auch nicht eine völlige Klärung der hier in Betracht kommenden biologischen Vorgänge zu geben vermögen. Verf. faßt die Hauptergebnisse der Arbeit in folgenden Schlußsätzen zusammen. 1. Der in den natürlichen Wässern nachgewiesene ungleichmäßige Verlauf der Sauerstoffzehrung, wie er sich besonders bei Berechnung der stündlichen Zehrung zu erkennen gibt, hängt ursächlich mit der Bakterienflora zusammen. 2. Durch Keimvermehrung wird ein Ansteigen, durch Wachstumshemmung bezw. durch Zurückgehen der Keimzahl eine Abnahme der stündlichen Zehrung bedingt. 3. Die Größe der Sauerstoffzehrung nach Überwindung des Latenzstadiums ist ein Maß für die Konzentration der vorhandenen, durch die Bakterien abbaufähigen Nährstoffe. 4. In künstlichen Nährlösungen, die gegenüber den benutzten Wässern eine üppigere Bakterienentwicklung gestatten, verläuft die durch die erwähnten Reinkulturen bedingte Sauerstoffzehrung gleichmäßig. Die stündliche Zehrung wächst bis zum vollständigen Verschwinden des Sauerstoffs, entsprechend nimmt die Keimzahl ständig zu, die Generationsdauer ab. 5. Das Sauerstoffbedürfnis einer in der Entwicklung begriffenen Kultur von Bac. fluorescens liquefaciens übertrifft unter gleichen Bedingungen dasjenige von Bact. coli etwa um das Sechsfache. 6. Der zur Erhaltung einer vorhandenen Bakterienmenge erforderliche Sauerstoff beträgt bei beiden Bakterienarten nur etwa $^1/_{10}$ des zum Anwuchs notwendigen. Die energisch verlaufende Sauerstoffzehrung, wie sie sich bei Flußwasseruntersuchungen durch die übliche Methode häufig zu erkennen gibt, wird also in ganz überwiegendem Maße durch die Vermehrung der Bakterien und nicht durch den zur Erhaltung der vorhandenen Bakterienzahl notwendigen Sauerstoff bedingt. Deutliche Sauerstoffzehrung eines Wassers ist also ein Zeichen für das Vorhandensein von organischen Stoffen von solcher Art und in solchen Mengen, daß durch sie eine Fortpflanzung und Vermehrung der Bakterien ermöglicht wird. Für die Beurteilung der Infektionsgefährlichkeit eines Gewässers ist eine solche Feststellung unter Umständen von Bedeutung. 7. Die unter anaeroben Bedingungen eintretende Zehrung gebundenen Sauerstoffs (Reduktionsgröße) verläuft wahrscheinlich qualitativ und quantitav anders als die unter aeroben Bedingungen stattfindende Aufzehrung gelösten Sauerstoffs. 8. Bei gleichzeitiger Einsaat von Bac. fluorescens liquefaciens und Bact. coli macht sich ein Antagonismus zwischen beiden Bakterien in der Weise geltend, daß ein starkes Zurückdrängen des Bact. coli durch den Bac. fluorescens liquefaciens stattfindet. A. Müller.

Dunbar, Zum gegenwärtigen Stande der Oberflächenwasserversorgung. Gesundheits-Ingenieur 1912, **35**, 10, 185 u. 11, 220.

Nachdem Verf. an Hand statistischen Materials auf die Bedeutung der Sanierung der Wasserversorgungsverhältnisse für die Bekämpfung der Cholera

und des Typhus hingewiesen hat, gibt er einen Überblick über die Geschichte der Sandfiltration, geht des näheren auf die Leistungsfähigkeit der Sandfilter ein und führt aus, wie das besonders in bakteriologischer Hinsicht unter gewissen Verhältnissen nicht absolut zuverlässige Arbeiten derselben mit ein Hauptgrund für die Einführung der Grundwasserversorgung gewesen ist, die bei der von Jahr zu Jahr zunehmenden Verschmutzung der oberflächlichen Gewässer allgemein angestrebt werden muß. Da jedoch einige Städte dauernd gezwungen sind, sich mit der Oberflächenwasserversorgung abzufinden, andere wenigstens in sehr trockenen Jahren auf dieselbe angewiesen sind, so hält Verf. es für angezeigt, der Verwendung des Oberflächenwassers wieder größeres Interesse entgegen zu bringen. Er bespricht dann eingehend die Mittel und Wege, welche zur Verfügung stehen, um dem plötzlichen Versagen der Filteranlagen bezw. der damit bedingten bakteriellen Verunreinigung des Wassers möglichst vorzubeugen. Erwähnung finden das Absitzverfahren, die Vorfiltration und die chemischen Fällungen als Methoden eine Verlängerung der Filterperioden herbeizuführen, das Ozonverfahren und die Chlorkalkbehandlung als Desinfektionsmethoden für verdächtiges Leitungswasser. Nach Ansicht des Verf. scheint die Desinfektion des für städtische Versorgungszwecke bestimmten Wassers, die in Nordamerika im Verlaufe der letzten Jahre einen beispiellosen Aufschwung genommen hat, dazu berufen zu sein, die Methoden und Grundsätze der Oberflächenwasserreinigung von Grund auf umzugestalten. A. Müller.

Erlwein, G. Die Reinigung des Trinkwassers von Bakterien mittels Ozons und ultravioletter Strahlen. Hygienische Rundschau 1912, Nr. 9, 65.

In diesem in der Deutschen Gesellschaft für öffentliche Gesundheitspflege zu Berlin gehaltenen Vortrag schildert Verf. den Entwicklungsgang dieser beiden Wassersterilisierungsverfahren, bespricht an Hand von Abbildungen kurz die verschiedenen bisher eingeführten Systeme und deren Leistungsfähigkeit und gibt Anhalte für die ungefähre Kostenberechnung. Nach Ansicht des Verf. wird die Ultraviolettmethode vorläufig noch mehr auf Klein- und Einzelanlagen beschränkt bleiben, während die Ozonmethode, die gegenüber der ersteren noch sehr erhebliche Vorzüge aufzuweisen hat, bereits als ein erprobtes schätzenswertes Hilfsmittel der Zentralwasserwerke gelten kann. A. Müller.

Müller, Paul, Th. Über eine neue, rasch arbeitende Methode der bakteriologischen Wasseruntersuchung und ihre Anwendung auf die Prüfung von Brunnen und Filterwerken. Archiv für Hygiene 1912. **75**, 4/5, 199.

100 ccm des zu untersuchenden Wassers werden in einem engen Meßzylinder zunächst mit 5 ccm Formalin, dann mit 5 Tropfen liquor ferri oxychlorati versetzt und durch Einblasen von Luft mittels der Pipette gründlich durchmischt. Nach einhalbstündigem Absitzenlassen wird die klare über-

stehende Flüssigkeit abgegossen, der Niederschlag mit fünf Tropfen konzentrierter alkoholischer Gentianaviolettlösung versetzt, in eine Zentrifugierepronvette umgeleert und nach 1 Minute langem Erhitzen im kochenden Wasserbade kurze Zeit zentrifugiert. Am Zentrifugengläschen ist je eine Marke, entsprechend dem Volumen von 1 und 2 ccm, angebracht. Von dem bei Benutzung der angegebenen Reagenzienmengen nicht mehr als 1 ccm betragenden Niederschlag wird die überstehende Flüssigkeit vorsichtig abpipettiert, sodaß das zurückbleibende Volumen genau 1 ccm beträgt. Nach gründlichem Durchmischen des Niederschlages durch Umrühren werden mittels einer in $^1/_{100}$ ccm geteilten Pipette 0,02 ccm desselben auf eine genau 1 qcm große, durch Flußsäureätzung umgrenzte Fläche eines gewöhnlichen Objektträgers übertragen und mit einer kleinen Platinöse so ausgestrichen, daß die ganze Fläche gleichmäßig bedeckt ist. Nach Fixierung über der Flamme wird nach Aufbringen eines Tropfen Zedernöls ohne Deckglas direkt mit der Immersionslinse gezählt. Die Bakterien erscheinen scharf und deutlich violett gefärbt auf gelbem bis gelbbraunem Grunde.

Da die benutzten Instrumente und Reagenzien möglichst weder lebende noch abgestorbene Bakterien enthalten dürfen, macht Verf. nähere Angaben darüber, wie dieser Forderung der Keimfreiheit Genüge geleistet werden kann. Trotzdem hält es Verf. für angezeigt, jedesmal einen blinden Versuch anzusetzen, zumal wenn man bei Untersuchung sehr keimreicher Wässer eine Verdünnung vornehmen muß. Eine vollständige Untersuchung soll in weniger als 1 Stunde bequem auszuführen sein. Was die Leistungsfähigkeit dieser ursprünglich von O. Müller zum Nachweis pathogener Keime im Wasser ausgearbeiteten Methode anlangt, so werden nach Verf. durch einmalige Fällung im Durchschnitt 99,1% der Gesamtbakterienmenge niedergeschlagen, vorausgesetzt, daß das Wasser nicht allzu bakterienreich ist. In stark verschmutzten Wässern (über 740000 Keime in 1 ccm) ist eine Verdünnung zu empfehlen. Bei einem sehr niedrigen Keimgehalt läßt sich noch mit Sicherheit entscheiden, ob die Keimzahlen nahe an 1000 oder 500 oder 100 liegen, dabei ist zu berücksichtigen, daß die mit der Fällungsmethode erhaltenen Keimzahlen außerordentlich viel höher sind als die auf den Platten gezählten Kolonien, bis über 1300 mal so hoch. Dieser Umstand ist nach den Untersuchungen des Verf. einmal durch die abgestorbenen mit zur Zählung gelangenden Keime, vor allem aber dadurch zu erklären, daß gerade in Brunnenwässern, zumal wenn dieselben wenig abgepumpt werden, eine ungeheure Vermehrung von Keimen eintritt, die sich in den üblichen Gelatineplatten nicht entwickeln. Ergibt aber die mikroskopische direkte Zählung eine niedrige Keimzahl, dann ergibt auch die Plattenmethode dasselbe Resultat. Verf. faßt das Urteil über die Leistungsfähigkeit seiner Methode selbst dahin zusammen, daß sie zwar bei keimreichen Wässern nicht eine gewisse Auswahl unter den Keimen zu treffen vermag, sondern auch die gleichgültigen Wasserbakterien mitbestimmt, daß sie aber andrerseits keimarmes Wasser im strengsten Sinn des Wortes, also bakteriologisch vollkommen einwand-

freies Wasser, rasch als solches erkennen läßt. Das Verfahren dürfte sich besonders zur bakteriologischen Sandfilterkontrolle eignen, nachdem man durch längere Erfahrung an Filtern eine Grenzzahl für die im Filtrat zulässigen Keime festgelegt haben wird. A. Müller.

Scheidt, E. O. Über Trinkwasserbehandlung mit ultraviolotten Strahlen. Chemiker-Ztg. 1912, **36,** 4, 34.

Im städtischen Wasserwerk von St. Petersburg wurden Sterisilationsversuche mit einem Unterwasserbrenner der Quarzlampenfabrik Hanau von 60 mm Leuchtrohrlänge gemacht. Das behandelte Wasser war Newawasser untermischt mit Filtrat aus den städtischen Filtern und hatte die charakteristische braune Färbung des Newawassers. Die Lampe lieferte in 1 Stunde 2500 l vollkommen steriles Wasser, dabei war die Grenze der Leistungsfähigkeit noch nicht erreicht. Verf. ist der Ansicht, daß das Verfahren sehr wohl mit der Ozonisation und der Hypochloritbehandlung von Wasser wetteifern kann, um so mehr, als eine Vereinfachung und Verbilligung desselben durchführbar sein soll. A. Müller.

Controle du fonctionnement des appareils de stérilisation par les rayons ultra-violets de la société française pour les applications des rayons ultra-violets. Eau et Hygiène 1911, **3,** 12, 81.

Die von der Gesellschaft eingerichteten Wassersterilisationsanlagen mittels ultravioletter Strahlen werden auf ihre Wirksamkeit in der Weise kontrolliert, daß die den Apparat passierende Wassermenge gemessen, das gleichmäßige Brennen der Quarzquecksilberlampe durch Amperemeter und Voltmeter verfolgt und schließlich festgestellt wird, ob die Lampe die erforderliche Menge bakterizider ultravioletter Strahlen hervorbringt.

Zur quantitativen Bestimmung der bakteriziden ultravioletten Strahlen wird ein Papier verwendet, das mit zitronensaurem Silber getränkt ist. Da nämlich nach Henri die Verfärbung derartigen Papieres unter Einwirkung ultravioletter Strahlen parallel der bakteriziden Wirksamkeit derselben verlaufen soll und dieselbe Lampe in der gleichen Zeit unter sonst unveränderten Bedingungen immer denselben Farbenton auf dem Papier hervorruft, so ist es möglich, nachdem einmal empirisch festgestellt ist, welcher Farbenton von einem bestimmten Brenner in bestimmter Zeit und Entfernung bei tadelloser Funktion hervorgerufen wird, durch Kontrollieren der Verfärbung festzustellen, ob die erforderliche Menge bakterizider ultravioletter Strahlen erzeugt wird. Zur Ausführung dieser Messung dient ein kleiner Apparat, der in den Sterilisationsapparat eingeführt wird. Der wesentliche Teil desselben besteht in einer in fünf Abschnitte geteilten Lamelle, deren Undurchlässigkeit für ultraviolettes Licht von Abschnitt zu Abschnitt um das gleiche Maß zunimmt. Auf jedem dieser Abschnitte befindet sich eine für ultraviolette Strahlen undurchlässige Zahl. Unter dieser Lamelle wird das empfindliche Papier der Einwirkung der zu kontrollierenden Lampe aus-

gesetzt. Aus der Zeit, die erforderlich ist, um eine derartige Verfärbung des Papiers unter einem bestimmten Abschnitt der Lamelle herbeizuführen, daß die auf demselben befindliche Zahl auf dem Papier als farbloser Abdruck lesbar wird, läßt sich erkennen, ob und um wieviel die Menge der bakteriziden ultravioletten Strahlen abgenommen hat. Die zeitraubende bakteriologische Kontrolle soll damit unnötig werden. A. Müller.

Jansen, H. und Strandberg, O. Untersuchungen darüber, ob die Bakterizidität der Radiumemanation auf Ozonentwicklung zurückzuführen ist. Ztschrft. f. Hyg. und Infektionskrankh. 1912, **71,** 2, 223.

Jansen hatte in einer früheren Arbeit gezeigt, daß Schrägagarkulturen von Bac. prodigiosus getötet wurden, wenn die Luft über der Kultur Radiumemanation von 345 Macheeinheiten pro 1 ccm enthielt und die Einwirkung 48 Stunden andauerte. Ob sich unter den damaligen Versuchsbedingungen Ozon gebildet hatte, dem die beobachtete bakterizide Wirkung eventuell zugeschrieben werden müßte, sollte die vorliegende Arbeit entscheiden. Die Versuche ergaben, daß unendlich viel mehr Ozon erforderlich ist, um auf die Bakterien einzuwirken als eine Blaufärbung von Jodkaliumstärkepapier zu bedingen. Da aber bei den Emanationsversuchen nicht einmal eine Wirkung auf Jodkaliumstärkepapier zu verzeichnen war, so ist mit Sicherheit eine Ozonwirkung in den früheren Versuchen Jansens über die Bakterizidität der Radiumemanation auszuschließen. A. Müller.

Eykman. De waarde der gistingsproef by 46°, als hulpmiddel by het wateronderscoch. Geneesk. Tijdschr. wood. Neder. Indie, t. **XLI**, f. 4, S. 462. (Nach Bull. de l'Inst. Pasteur, t. X, 1912, Nr. 2.)

Verf. verteidigt die Brauchbarkeit seiner Methode des Colinachweises gegen die Einwände Hehewerth's. Die bei 46° C wachsenden Colikeime, welche sich in den menschlichen Fäzes finden, lassen sich nur in solchen Wässern nachweisen, die fäkal verunreinigt sind. Ein negativer Ausfall der nach seinen Angaben durchgeführten Untersuchung schließt, wie Verf. auch schon in seinen früheren diesbezüglichen Publikationen hervorgehoben hat, die Möglichkeit einer fäkalen Verunreinigung nicht aus, ein positiver Ausfall dagegen beweist die stattgehabte Verschmutzung unzweifelhaft.

A. Müller.

Guth, F. und Keim, P. Die Bedeutung der Nitrate für die Behandlung von Abwasser und Schlamm. Gesundheits-Ing. 1912, **35,** 4, 57.

Nach Weldert läßt sich mechanisch vorgereinigtes, vorgefaultes Abwasser durch Zusatz von 0,1—1,0 kg Chilisalpeter pro 1 cbm in einen nicht mehr fäulnisfähigen Zustand überführen, desgleichen kann Abwasserschlamm durch Zusatz von 1,5—8,0 kg Salpeter seiner unangenehmen Eigenschaften beraubt und in ein leicht drainierbares Produkt umgewandelt werden. Die Verf. prüften diese Angaben nach und stellten auch Versuche mit ganz frischem

Abwasser und Schlamm an. Zu den Versuchen wurden Abflüsse des Eppendorfer Krankenhauses, rein häusliche städtische Sielwässer, Meierei- und Brauereiabflüsse benutzt. Bei den Meierei- und Brauereiabwässern konnte durch Nitratzusatz eine wesentliche Besserung nicht erzielt werden, auch frischer Schlamm aus der Eppendorfer Versuchsanlage und älterer aus der Kläranlage in Fuhlsbüttel wurde durch Salpeter nur unwesentlich oder gar nicht verändert, dagegen konnten bei Verwendung mehr oder weniger lange vorgefaulter oder frischer häuslicher Abwässer die günstigen Befunde Welderts bestätigt werden. Auch bei nachfolgender Verdünnung mit Flußwasser faulten diese Abwässer nicht. Die Anwesenheit von Bakterien ist für die Auslösung der Nitratwirkung durchaus notwendig, bei steriler Versuchsanordnung blieben die Substanzen unverändert nebeneinander bestehen.

Verf. halten es nicht für ausgeschlossen, daß das Nitratverfahren als selbständige Methode zur Behandlung häuslicher Abwässer Verwendung finden kann. Da durch dasselbe aber der Gehalt des frischen Abwassers an Ammoniak etwas gesteigert wird, da ferner die organische Substanz nicht in dem Grade wie bei der biologischen Reinigung zerstört wird und die ungelösten Stoffe von ganz anderer Beschaffenheit sind wie die in den Abflüssen der Oxydationskörper, so muß erst noch durch praktische Versuche entschieden werden, ob nicht etwa durch im Vorfluter auftretende Mißstände die Brauchbarkeit der Methode eingeschränkt wird. A. Müller.

Dünkelberg. Kaliendlaugen und Wasserversorgung. Das Wasser 1912, 8, 6, 177.

Verf. wendet sich zunächst gegen einen von einem Ungenannten in der gleichen Zeitschrift (1911, **7**, Nr. 33) veröffentlichten Artikel und gegen die Untersuchungen Wagners („Kali“ 1911, Nr. 5), nach denen der schädigende Einfluß der Kaliendlaugen auf das Flußwasser von den Flußanliegern stark übertrieben werden soll. Er hebt besonders die Schädigungen hervor, die dadurch entstehen, daß durch die weitgehende Verhärtung die Brauchbarkeit des Wassers für hauswirtschaftliche Zwecke, als Kesselspeisewasser und besonders als Brauwasser stark beeinträchtigt wird. Zu Unrecht folgert nach Ansicht des Verf. Wagner, daß ein durch Magnesiumchlorid bis zu 60 und 100 Graden verhärtetes Wasser, da es für Flora und Fauna unschädlich sei, auch als Trinkwasser unbedenklich sein müsse. Eine Gewöhnung an ein gleichmäßig ziemlich hoch verhärtetes Wasser kann wohl eintreten, da aber in den Flüssen ein Schwanken der Verhärtung innerhalb weiter Grenzen nicht zu vermeiden sein wird, so schlägt Verf. vor, die Endlaugen vor ihrer Einleitung in die Vorflut einer Reinigung durch Erdfiltration zu unterziehen, wobei die in Frage kommenden Salze durch Silikatbildung niedergeschlagen werden sollen. Wenn eine periodische Austrocknung des Bodens vorgesehen ist, soll es gelingen, auf 1 ha Land täglich 10000—12000 cbm Endlaugen zu reinigen. Diesbezügliche Versuche mit Endlaugen scheinen aber vom Verf. noch nicht ausgeführt worden zu sein. A. Müller.

Nuisances due to excessive growths of Green Seaweeds in Sewage Polluted Estuaries, with special reference to Belfast Lough. Royal Commission On Sewage Disposal. Seventh Report of The Commissioners Appointed To Inquire And Report What Methods Of Treating and Disposing of Sewage May Properly Be Adopted. Wyman and Sons, Ltd., London E. S., Fetter Lane and London S. W. 32, Abingdon Street.

Der vorliegende Bericht befaßt sich eingehend mit der Frage, ob Beziehungen zwischen der Verschmutzung von Meeresbuchten durch städtische Abwässer und der üppigen Entwicklung von Grünalgen in diesen Buchten bestehen. Die Veranlassung zu den Untersuchungen gaben die Verhältnisse in der Belfast-Bucht, wo infolge Fäulnis der abgestorbenen Algen unter anderem besonders starke Geruchsbelästigungen hervorgerufen wurden. Die Algenbänke bestanden fast ausschließlich aus Ulva latissima, so daß diese Alge bei den Versuchen allein berücksichtigt wurde. Die ausgedehnten Untersuchungen erstreckten sich im wesentlichen auf folgende Punkte: auf die Abwasserleitung in der Belfast-Bucht und ihre Beeinflussung durch die Strömungsverhältnisse; auf die Verbreitung von Ulva im allgemeinen und ihr Vorkommen in verschiedenen Tiefen im besonderen; auf chemische Untersuchung der Algen selbst, des Bodens, des Schlammes und des Wassers; auf fermentative Veränderungen in See- und Frischwasser bei Verschmutzung mit Abwasser; auf vergleichende Untersuchungen über die Entwicklung von Ulva in reinem Seewasser und Mischungen desselben mit Frischwasser und Abwasser; auf Beeinflussung des Algenwachstums durch Entfernen der Muscheln von den Algenbänken und durch Zugabe von Kupfersulfat; auf Verwertungsmöglichkeiten der Algenrasen.

Da es im Rahmen eines Referates nicht möglich ist, auf die einzelnen Arbeiten der Spezialberichterstatter einzugehen, so mag aus den Ergebnissen hervorgehoben werden, daß weder die gelösten noch die suspendierten Bestandteile des Abwassers die eigentliche Ursache für die übermäßige Algenentwicklung sind, daß vielmehr physikalische Eigenschaften des Wassers und des Untergrundes in erster Linie hierfür ausschlaggebend sind. Obwohl die in Frage stehende Bucht ziemlich gleichmäßig durch Abwasser verschmutzt ist, finden sich die Algen nur an geschützten Stellen mit seichtem Wasser und mäßiger Strömung, wo außerdem der Boden das Anhaften der Algen erleichtert (Muscheln). Durch Entfernen der Muscheln und Behandlung der Algenvegetationen mit Kupfersulfat (1,85 kg auf 1 a) läßt sich eine Bekämpfung derselben durchführen. A. Müller.

Elektrische Trinkwasserreinigung. Ref. in Zeitschr. f. Gewerbe-Hygiene usw. 1912, **19**, 3, S. 67.

In der Electrical World ist eine von der American Electric Water Purifying Machine Company eingeführte Methode zur Trinkwasserreinigung durch elektrischen Strom beschrieben, welche die anderen bisher bekannten

Systemen anhaftenden Mißstände nicht besitzen soll. Die Apparatur wird direkt an die Wasserleitung angeschlossen. Der wirksame Teil des Apparates ist ein Elektrodenkasten. In diesem Kasten kommt das Wasser mit Aluminiumelektroden in Berührung; das hier sich bildende Aluminiumhydroxyd reißt sämtliche gröberen Suspensionen mit sich zu Boden, während der gleichzeitig entstehende Sauerstoff die vorhandenen Bakterien abtöten soll. Aus dem Elektrodenkasten kommt das Wasser in einen Absitzraum, um dann noch ein aus kleinen Granit-Quarzstückchen bestehendes Filter zu passieren. A. Müller.

III. Pflanzenkrankheiten und Systematik der Pilze.

Istvánffi, Gy. von und Pálinkás, Gy. Infektionsversuche mit Peronospora. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 32, 1912, S. 551--564.

Zur erfolgreichen Bekämpfung einer parasitären Krankheit ist eine gründliche Kenntnis der Biologie des Parasiten und seines Verhältnisses zum Wirt eine unerläßliche Vorbedingung. Da aber bezüglich der Biologie von Peronospora noch viele ungeklärte Fragen existieren, bisher Infektionen von Rebstöcken im Freien unter natürlichen Verhältnissen noch nicht unternommen wurden und auch die Literatur über Traubeninfektionen gar nichts enthält, so haben die Verff. zur Erforschung der noch offenstehenden Fragen Infektionsversuche mit genanntem Pilz gemacht, von denen die Ergebnisse hier angegeben werden sollen.

Bezüglich der Frage der Überwinterung hat Istvánffi schon in einer früheren Arbeit festgestellt, daß das Myzelium der Peronospora in den Rebstöcken den Winter überdauert.

Die Infektion von Blättern auf abgeschnittenen Trieben gelingt leicht, wenn in die Triebe Wasser eingepreßt wird, um den Turgor der Zellen aufrecht zu erhalten und wenn die Triebe in einer Atmosphäre von 90 % relativer Luftfeuchtigkeit und 20—30° C gehalten werden. Die Blätter wurden auf der Ober- und Unterseite infiziert. Auf der Unterseite zeigten sich nach 5 Tagen schon fast an der Hälfte der Infektionsstellen Konidienträger, während an der Oberseite nach 10 Tagen von einem Erfolg der Infektion noch nichts zu bemerken war.

Infektionen von Rebstöcken im Freien gelingen ebenfalls ziemlich leicht. Die Blätter können auch von der Oberseite her angesteckt werden, doch ist hier das Eindringen der Keimschläuche schwerer und weniger häufig. Bei feuchtem Wetter kann die Zahl der Infektionen eine sehr große sein, wenn genügend Peronospora-Konidien vorhanden sind. An Wundstellen der Epidermis findet keine Infektion statt. Bei manchen amerikanischen Unterlagssorten und Hybriden gelang die Infektion schlechter, bei manchen gar nicht.

Die Inkubationszeit der Peronospora-Krankheit schwankt je nach der Jahreszeit zwischen 6 und 14 Tagen. Mitte Mai ist sie lang und im Juli kurz. Infolge Mangels an genügender Feuchtigkeit kommt es oft vor, daß die Ölflecken nicht bald zum Vorschein kommen, das Myzelium 1 bis 7 Wochen lang entwicklungsfähig bleibt und erst nach dieser Zeit die Ölflecken oder Konidien erscheinen.

Abgeschnittene Trauben können leicht künstlich infiziert werden und zwar zeigt sich der Erfolg der Infektion schon nach vier Tagen. Bei künstlichen Infektionen von Trauben im Freien zeigten sich die ersten Spuren der Peronospora nach 12—14 Tagen, indem die Stielchen und die Traube sich verfärbten. Nach weiteren 5—7 Tagen schrumpften die Beeren zusammen und vertrockneten. An ein und derselben Traube trat die Bräunung nicht so gleichmäßig und pünktlich auf wie die Ölflecke an den Blättern. Die Inkubationszeit für die Infektion ist an verschiedenen Stellen der Beeren verschieden, an der Krone ist sie am kürzesten, am Kamm etwas über der Basis der Stielchen am längsten. Die Inkubationszeit nimmt mit der wachsenden Luftfeuchtigkeit proportional ab. Durch Regen und Nebel kommt nicht eine durch dieselben hervorgerufene Infektion plötzlich zum Ausbruch, sondern wird bloß eine frühere, in den Trauben schon seit mehreren Tagen latente Infektion rascher ausgelöst.

Das Ende der Inkubationszeit wird durch das Auftreten einer grünlichgelben Verfärbung (Ölflecken) an den infizierten Stellen des Rebenblattes bestimmt. Die grünlichgelben Flecken erscheinen bei feuchtem Wetter fast ohne Übergangsstadium plötzlich, bei relativer Trockenheit dagegen allmählich. Bei milder Witterung und genügend feuchter Luft erscheint auf den Ölflecken nach Verlauf von 2—3 Tagen ein spärlicher Rasen von Konidienträgern, bei trockenem Wetter dagegen erst nach 6—8 Tagen. Bei einer Temperatur von 20° C und genügender Feuchtigkeit erscheinen auf den Ölflecken die Konidien schon nach 10 Stunden. Höhere Temperaturen üben eine nachteilige Wirkung auf den Pilz aus. Behufs richtiger Bekämpfung ist zu berücksichtigen, daß die wiederholte Bespritzung dann vorgenommen werden muß, sobald die Ölflecken im Erscheinen begriffen sind. Natürlich muß auch zuvor festgestellt werden, ob die verdächtigen Flecke tatsächlich Ölflecke der Peronospora sind. Für die Zwecke dieser Feststellung geben die Verff. eine Methode an.

Sodann geben uns die Verff. ihre Ergebnisse über die Untersuchung der Konidienträger und Konidien bekannt, von denen wir hier nur erwähnen, daß die bei nasser Witterung rasch hervorbrechenden Konidienrasen erst nach Verlauf eines Tages reif und infektionsfähig werden, welcher Umstand für die praktische Bekämpfung von Bedeutung ist.

Zum Schluß weisen die Verff. auf Grund ihrer Infektionsversuche darauf hin, daß erhöhter Wassergehalt der Wirtspflanze die Ansteckungsgefahr vergrößert und daß alle Einflüsse, die den Wassergehalt herabsetzen, im all-

gemeinen die Widerstandsfähigkeit der Weinrebe gegen diesen Parasiten vermehren. J. Weese, Wien.

Eriksson, Jakob. Die rote Farbe der Fruchtschale — und die Schorfkrankheit der Obstsorten. Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten Bd. 21, 1911, S. 129—131.

Verf. tritt hier auf Grund seiner in Schweden gemachten Erfahrungen der von E. Voges geäußerten Vermutung entgegen, daß die rote Schalenfarbe der Obstsorten eine gewisse Immunität gegen die von Fusicladium dendriticum und F. pirinum verursachte Schorfkrankheit hervorrufe. Verf. beobachtete an verschiedenen Orten Mittel- und Südschwedens, daß gerade die rotgefärbten Apfelsorten oft die am meisten vom Schorfpilz befallenen waren. Auch unter der blattzerstörenden Form des Apfelschorfpilzes litten die roten Apfelsorten am meisten. In der Schalenfarbe der Früchte an und für sich dürfte also kein Schutzmittel gegen den Schorfpilzangriff vorliegen.

Der Angriff des Birnenschorfpilzes (Fusicladium pirinum) dürfte ebenfalls nicht mit der Schalenfarbe der Früchte in Verbindung gesetzt werden können. Bei der Überwinterung dieses Pilzes spielen sicher die Schorfbildungen an Stammteilen gewisser Birnsorten eine wichtige Rolle.

Als bestes Kampfmittel gegen die Schorfkrankheit der Obstsorten empfiehlt der Verf. vollständiges Einsammeln und Verbrennen der pilzhaltigen Blätter und wiederholtes Bespritzen der belaubten Bäume mit pilztötender Flüssigkeit. J. Weese, Wien.

Fraser, W. P. Cultures of some heteroecious rusts. Mycologia Bd. 3, 1911, S. 67—74.

Verf. boten sich in Neuschottland ausgezeichnete Gelegenheiten für Studien und Versuche über Rostpilze, die ein Peridermium als Äcidienstadium haben. In Kürze teilen wir die Ergebnisse dieser Beobachtungen mit.

Mit Teleutosporen von Melampsoropsis Cassandrae (Peck et Clinton) Arth., welcher Pilz auf Chamaedaphne calyculata (L.) auftrat, wurde Picea rubra infiziert. Zuerst erschienen Pykniden, dann nach kurzer Zeit Äcidien, die als Peridermium consimile Arth. et Kern. bestimmt wurden. Clinton hatte Chamaedaphne calyculata mit Sporen von Peridermium consimile infiziert und das Uredostadium von Melampsoropsis Cassandrae erhalten. Clintons Versuche bestätigen also die des Verf.

Verf. infizierte Picea rubra mit Teleutosporen von Melampsoropsis abietina (Alb. et Schw.) Arth., die von Ledum groenlandicum stammten, und erzielte Äcidien von Peridermium abietinum (Alb. et Schw.) Thüm.

Eine Infektion von Picea canadensis (Mill.) mit Teleutosporen von Melampsoropsis ledicola (Peck.) Arth. hatte Äcidien zur Folge, die als Peridermium decolorans Peck. bestimmt wurden.

Verf. verfolgte die Entwicklung von Peridermium conorum Piceae (Reess) Arth. et Kern. auf den Zapfen von Picea mariana und fand da-

durch eine Bestätigung für die Richtigkeit der Vermutung Rostrups, daß Peridermium conorum Piceae das Äcidienstadium von Melampsoropsis Pyrolae (D. C.) Arth. sei.

Nach den Beobachtungen des Verf. im Freien scheint es, daß Pucciniastrum arcticum (Lagerh.) Tranz. zu Peridermium balsameum Peck. gehört und daß die Äcidienform von Calyptospora Goeppertiana Kühn auf Abies balsamea auftritt.

Durch Infektion von Atriplex patula und Chenopodium album mit Teleutosporen von Uromyces Peckianus Farlow, die von Distichlis spicata stammten, wurden auf genannten Pflanzen Äcidien erzielt.

J. Weese, Wien.

Hedges, Florence. Sphaeropsis tumefaciens, nov. sp., the cause of the lime and orange knot. Phytopathology, Vol. 1, 1911, S. 63.

Verf. hat aus Zweigzellen von Citrus hystrix var. acida einen Pilz isoliert, den er auf Grund seiner Studien bei Infektionsversuchen und Kulturen zu Sphaeropsis stellt und als Sphaeropsis tumefaciens nov. spec. beschreibt. J. Weese, Wien.

Briosi, G. e Farneti, R. La morio dei castagni o mal dell' inchiostro. Atti Istit. Botan. Pavia Ser. 2, T. 15, 1911, S. 43—51.

Coryneum perniciosum, welches nach den Untersuchungen der Verff. die Tintakrankheit der Edelkastanie erregt, soll nach Griffon und Manblanc mit Coryneum Kunzei var. Castanea Sacc. identisch sein, geradeso wie seine Askusform Melanconis perniciosa mit Melanconis modonia Tulasne zusammenfallen soll. Verf. halten aber Melanconis perniciosa mit den Konidienformen Coryneum perniciosum und Fusicoccum perniciosum als gute, eigene Arten aufrecht. Melanconis perniciosa befällt die Rinde der Halszone des Baumes und durch das Absterben des Rindengewebes tritt dann die Erscheinung des braunen Schleimflusses an den Wurzeln auf. J. Weese, Wien.

Pantanelli, E. Sul parassitismo di Diaporthe parasitica Murr. per il castagno. Rend. Accad. Lincei Ser. 5, T. 20, 1911, I. Sem., S. 366—372.

Nach den Infektionsversuchen des Verf. ist die Diaporthe parasitica Murr., die nach den Berichten verschiedener amerikanischer Pathologen die Kastanienwälder seit 1905 verheert, auch für unsere Castanea vesca L. im milden Mittelmeerklima parasitisch. Die Mikrokonidien aus den Pseudopykniden sind ebenso virulent wie die Askosporen aus den Schlauchfrüchten. Unter dem Einfluß des Parasiten stirbt eine breite Rindenzone unter Bildung eines gelbroten Fleckens und nach mehreren Monaten der ganze über der Infektionsstelle gelegene Teil des Astes ab. Bisher ist die Krankheit auf Nordamerika beschränkt, doch ist die Gefahr vorhanden, daß sie mit den Kastaniengerbrinden auch nach Europa eingeschleppt wird. J. Weese, Wien.

Van Hall, C. G. G. Les maladies du Cacaoyer causées par des champignons. L'Agronom. Tropico 1911, Nr. 3.

Unter den zahlreichen als Parasiten des Kakaobaumes beschriebenen Pilzen läßt Verf. nur neun gelten, die als Krankheitserreger des Kakaobaumes zu betrachten sind, und zwar eine von Phytophthora omnivora deutlich verschiedene Phytophthora-Art, die die Schwarzfleckigkeit der Kakaofrucht hervorruft; Fusarium colorans, das die Krebskrankheit am Stamme des Kakaobaumes verursacht, für die früher verschiedene, nach Ansicht des Verf. nur saprophytische Nectria-Arten verantwortlich gemacht wurden; Diplodina cacaoicola, die ein Absterben von Stamm und Zweigen, die sog. „Die-back"-Krankheit, herbeiführt; Corticium javanicum, das auf Stämmen und Zweigen zahlreiche braune und feuchte Flecken zur Folge hat und die erstgenannten zum Absterben bringt („Djamoer-oepas"-Krankheit); Colletotrichum luxificum, welcher Pilz Hypertrophie und Deformation der Zweige, sowie Versteinerung der Früchte und auf diese Weise bedeutenden Schaden verursacht; Stilbella nana, der Spinnwebenpilz, der Blätter und Zweige mit einem dichten, weißen Myzelüberzug bedeckt und eine Krankheit veranlaßt, die auch den Teestrauch ergreift; Hymenochaeta noxica, ein Hutpilz, der eine Wurzelkrankheit hervorruft, und Taphrina Bussei, welcher Pilz einen Hexenbesen verursacht. J. Weese, Wien.

Sorauer, P. Nachträge. IV. Erkrankungsfälle bei Orchideen. Zeitschr. f. Pflanzenkrankh., Bd. **21**, 1911, S. 387—395, 3 Textfig.

Verf. berichtet über ein in einer Orchideengärtnerei beobachtetes Absterben der Blätter und Bulben von Coelogyne cristata. Die Blätter werden von der Spitze oder vom Rande her nußfarbig und trocken, dann entwickeln sich noch auf der Blattfläche vergilbende, trockenwerdende Stellen. In erkrankten Gewebeteilen wurde ein Gloeosporium nachgewiesen, das am besten mit Gloeosporium affine Sacc. übereinstimmt und das als die Ursache der Krankheit betrachtet wird.

Bei Cattleya Mendelii wurde dasselbe Gloeosporium als Erreger einer durch Abtrocknen der Blütenscheiden zum Ausdruck kommenden Krankheit festgestellt.

Sodann berichtet Verf. über Erkrankung an Blättern von Cypripedium laevigatum, Laelia und Cattleya, die nicht pilzparasitärer Natur sind.

J. Weese, Wien.

Eriksson, J. Die Hauptergebnisse einer neuen Untersuchung über den Malvenrost, Puccinia Malvacearum Mont. Centralbl. f. Bakt., Bd. 31, 1911, S. 93—95.

Verf. teilt in dieser vorläufigen Mitteilung (französisch publiziert in Compt. Rend. T. 152, S. 1778) die Hauptergebnisse der seit dem Jahre 1899 fortgehenden Untersuchungen über den Malvenrost mit.

Die Hauptwirtspflanze von Puccinia Malvacearum Mont. ist Althaea rosea, darauf folgt als Lieblingspflanze Malva silvestris. Eine scharfe Spezialisierung des Pilzes nach den Wirtspflanzen ist nicht konstatiert worden, erscheint aber nicht ganz ausgeschlossen.

Die Verbreitung des Pilzes geschieht hauptsächlich durch kranke Samen, die sehr häufig sind, und aus solchen Samen hervorgegangene Sämlinge, bei denen gewöhnlich nach drei Monaten die Krankheit zum ersten Ausbruch kommt.

Die Überwinterung des Pilzes an erkrankten Stockrosenpflanzen erfolgt nicht durch Sporen, auch nicht durch ein in eventuell beibehaltenen Blattresten oder in überwinternden Stammknospen vorhandenes Myzelium, sondern durch ein in diesen Pflanzenteilen vorhandenes Plasmastadium, das eine Symbiose zwischen dem Plasma des Pilzes und der Nährpflanze darstellt (Mykoplasma).

Der primäre Ausbruch im Herbst und Frühjahr sind biologisch verschieden. Beim Herbstausbruch keimen die Sporen, die äußerlich keine Unterschiede zeigen, auf zweierlei Art: durch gebogene, kurze Promyzelien mit Sporidien und weniger häufig durch lange, meist gerade Fäden, deren kurze Endglieder als Konidien auseinanderfallen. Die Frühjahrsausbrüche zeigen nur oder fast nur letztere Art der Keimung. Bei künstlicher Überwinterung im Gewächshause treten beide Arten der Keimung auf.

Die Sporidien der kurzauskeimenden Sporen senden einen zarten Keimschlauch durch ein feines Loch in der Epidermisaußenwand ins Innere der Pflanze. Die Konidien der langauskeimenden Sporen schießen anscheinend ohne Lochbildung durch die Außenwand der Epidermis ihr Plasma in die Epidermiszelle hinein. Das entstandene Mykoplasma wandert ins Innere der Pflanze weiter.

Aus dem Mykoplasma geht erst das Myzel kurz vor dem Hervorbrechen der Sporenlager hervor. In dem trüben Plasmakörper der Zelle tritt ein freier Nukleolus auf, der die in der Zelle vorhandenen Pilzstoffe um sich ansammelt, die dann nach der Zellwand hinstreben, sie durchdringen und einen jungen Pilzfaden bilden. J. Weese, Wien.

Edgerton, C. W. Two new fig diseases. Phytopathology, 1911, Bd. I, S. 11—17, 1 Taf. und 1 Textfig.

Verf. berichtet über zwei Feigenerkrankungen und zwar über den Feigenkrebs, der durch eine neue Tubercularia-Art und zwar Tubercularia fici Edg., die zwar nicht ganz in die Gattung Tubercularia paßt, verursacht wird, und über eine zweite Erkrankung (Limb Blight), die durch das anfangs saprophytisch lebende Corticium laetum Karst. herbeigeführt wird.

J. Weese, Wien.

Schneider-Orelli, O. Zur Kenntnis des mitteleuropäischen und des nordamerikanischen Gloeosporium fructigenum. Centralbl. f. Bakt., Bd. 32, 1912, S. 459—467.

Auf Grund seiner Versuche konnte Verf. feststellen, daß sich das amerikanische und das schweizerische Gloeosporium fructigenum physiologisch in manchen Punkten deutlich unterscheiden.

Erstens handelt es sich hier um zwei verschiedene Wärmerassen, da beim amerikanischen Pilz die Kardinalpunkte des Wachstums beiläufig 5° C höher liegen als bei dem mitteleuropäischen. Dann ließ sich feststellen, daß das amerikanische Gloeosporium fructigenum ein viel wirksamerer Fäulniserreger sei als das mitteleuropäische. Dazu kommt noch, daß der amerikanische Pilz eine bedeutend größere Wachstumsgeschwindigkeit zeigt, als der mitteleuropäische.

Dann ist das amerikanische Gloeosporium fructigenum auch als Ursache einer weit verbreiteten Krebserscheinung bekannt, während das mitteleuropäische nie als Krebserreger an den Zweigen von Apfelbäumen konstatiert wurde.

In morphologischer Hinsicht sind aber keine deutlichen Unterschiede zwischen den beiden Rassen vorhanden und eine Speziestrennung ist daher nicht durchzuführen. Vielleicht könnte man hier von biologischen Arten sprechen. J. Weese, Wien.

Zach, Franz. Die Natur des Hexenbesens auf Pinus silvestris L. Naturwissenschaftl. Zeitschr. f. Forst- u. Landwirtschaft, Jahrg. 9, 1911, Heft 8, S. 333—356.

Zuerst gibt der Verf. eine Übersicht über die sich mit dem Auftreten und der Ursache des Kiefernhexenbesens beschäftigende Literatur, aus der hervorgeht, daß verschiedenartige Mißbildungen der Kiefernzweige als „Hexenbesen“ bezeichnet werden, denen zweifellos auch ganz verschiedene Entstehungsursachen zugrunde liegen können.

Verf. beschäftigt sich in vorliegender Arbeit nur mit jenen Besen, die aus sonst normalen Trieben bestehen und sich abgesehen von ihrem negativen Geotropismus nur durch die enorme Häufung und die geringere Länge der Zweige und eventuell noch durch ihre kürzeren Nadeln von den normalen Ästen unterscheiden.

Da an den zur Untersuchung verwendeten Hexenbesen die Merkwürdigkeit zu beobachten war, daß zahlreiche End- und Seitenknospen fehlten, und das genauere Studium ergab, daß hier kein Tierfraß vorliegen könne, so vermutete Verf., daß die Knospen durch einen Parasiten, den sie beherbergen, eine allgemeine Schwächung erfahren müssen. Bei seinen Studien zum Zwecke der Erklärung der Hexenbesenbildung ging er daher von den Knospen aus.

Verf. konnte an entsprechend gefärbten Mikrotomschnitten der Knospen sofort konstatieren, daß es sich hier um eine Infektion handelt. Er beobachtete anfangs im Plasma eingelagerte, geschlängelte, längere Fäden, die entweder das ganze Plasma durchziehen oder auf einen bestimmten Teil der Zelle lokalisiert erscheinen und die im ersteren Falle dann in mehrere kleinere Stäbchen zerfallen, die hierauf unregelmäßig anschwellen und zu den für Infektionen charakteristischen „Exkretkörpern" werden, im letzteren Fall nach dem Zerfall in Stäbchen bald degenerieren, zu „Exkretkörpern" werden und dann in der Zelle als ein auffallendes Gitterwerk zu sehen sind.

Aus diesen zytologischen Beobachtungen geht hervor, daß der Hexenbesen der Weißkiefer lediglich auf eine Erkrankung der Knospen zurückzuführen sei, die durch einen allem Anschein nach zu Streptothrix gehörigen Endophyten verursacht wird. Dadurch, daß die befallenen Endknospen häufig in ihrem Wachstum zurückbleiben oder gänzlich absterben und auch bei den Seitenknospen dieselben Erscheinungen sich wiederholen können, entsteht die bekannte Wuchsform des Hexenbesens.

Verf. ist es sechsmal gelungen, von dem Endophyten der Knospen Reinkulturen zu erhalten, aus denen hervorgeht, daß der Organismus unzweifelhaft zu den Streptothricheen zu rechnen ist. Er dürfte jener Gruppe nahestehen, zu der auch der Erreger der Erlenknöllchen gehört.

J. Weese, Wien.

Zach, Franz. Notiz zu dem Aufsatze „Die Natur des Hexenbesens auf Pinus silvestris L." Naturwissenschaftl. Zeitschr. f. Forst- u. Landwirtschaft, Jahrg. 10, 1912, Heft 1.

Verf. hat nach Veröffentlichung des genannten Aufsatzes die Untersuchung des Hexenbesens fortgesetzt und ist dabei zu dem Resultate gekommen, daß ein großer Teil der erwähnten „Exkretkörper", die aus den als Bakterien angesehenen Fäden hervorgehen, aus Harz oder einem harzartigen Stoff bestehen und durch Umwandlung aus Stärkekörnern entstanden sind. Ein großer Teil der beschriebenen Körper, wenn nicht alle, sind nicht als degenerierte Bakterien aufzufassen, sondern es sind Stärkekörner, die mehr oder weniger in Umwandlung in Harz begriffen sind.

Die Fäden und Stäbchen, die Verf. in Knospen des Hexenbesens fand, möchte er mit Rücksicht auf ihre Übereinstimmung mit der in den Kulturen erhaltenen Bakterienform auch weiterhin als Bakterien angesprochen wissen.

J. Weese, Wien.

Müller-Thurgau, H. Infektion der Weinrebe durch Plasmopara viticola. Ctbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 29, 1911, S. 683—695.

Verf. benutzte bei seinen Versuchen zum Zwecke des Studiums des Infektionsvorganges der Weinrebe durch Plasmopara viticola ausschließlich Blätter an Weinstöcken, die im Topf gezogen und unter Glas gehalten wurden.

Die Infizierung wurde in der Weise durchgeführt, daß Wassertropfen mit Konidiensporen auf die Blätter gegeben wurden.

Durch seine Untersuchungen stellte der Verf. fest, daß Plasmopara viticola selbst unter den günstigsten Umständen nicht oder höchst selten in die obere Epidermis des Blattes einzudringen vermag, daß dagegen die Infektion von der unteren Blattseite her leicht gelingt. Dieser Befund wird in Zukunft bei der vorbeugenden Bekämpfung der Krankheit zu berücksichtigen sein.

Zarte, kaum sichtbare Risse, wie solche auch durch schwaches Hagelwetter verursacht werden, ermöglichen die Infektion von der Blattoberseite.

Bei älteren, ausgewachsenen Blättern ließen sich zwar Infektionsversuche erfolgreich durchführen, doch konnte sich der Pilz hier nur wenig ausdehnen und starb bald ab. Bei jüngeren, noch zarten Blättern hingegen wurden die Infektionsstellen größer und der Pilz gelangte besser zur Entwicklung. Bei ganz jungen Blättern gelangen die Infektionen etwas seltener, gelang aber die Impfung, so ging dem Absterben des Gewebes ein Vergilben voraus. Die allerjüngsten Blätter konnten in mehreren Fällen auch auf der Blattunterseite nicht infiziert werden.

In den ziemlich rasch abgestorbenen Infektionsflecken der älteren Blätter fand Verf. eine große Zahl von Oosporen. J. Weese, Wien.

Höhnel, Fr. von. Fragmente zur Mykologie. XI. Mitt. Nr. 527—573. Sitzungsberichte d. kais. Akademie der Wissensch. in Wien, math.-nat. Kl., Bd. CXIX, Abt. 1, S. 617—679.

Da zahlreiche Pilzgattungen und -Arten älterer Autoren vielfach ungenügend beschrieben und oft falsch klassifiziert sind, so ist es, um vor allem tropische Pilze richtig bestimmen zu können, dringend notwendig, daß diese Pilze auf Grund der Originalexemplare gründlich revidiert werden. Verf. dieser Fragmente hat sich dieser mühevollen Arbeit unterzogen und uns schon in früheren Mitteilungen mit den interessanten Ergebnissen seiner Revisionen bekannt gemacht. In vorliegender Arbeit setzt er seine kritischen Studien fort. Mit Rücksicht auf die große Bedeutung, die diese Untersuchungen für die Pilzsystematik haben, teilen wir kurz die wichtigsten Resultate derselben mit.

Nr. 527. Kullhemia Karst. ist eine Dothideacee, die mit Pseudographis nahe verwandt ist, Pseudographis (nach Rehm eine Pseudophacidiee) wird richtiger als Tryblidiacee betrachtet, die eigentlich ganz hervorbrechende Pseudophacidieen sind.

Nr. 528. Peziza hysterogena B. et Br. ist nicht mit Peziza ilicincola B. et Br. identisch und stellt eine neue Gattung dar, die Encoeliella genannt wird. Encoeliella v. Höhn. ist ein Cenangium mit behaarten, kleinen Apothezien und kugeligen Sporen.

Peziza Ravenelii B. et C. ist nur eine Form von Peziza hysterigena. Peziza ilicincola B. et Br. hat Mollisiella ilicincola (B. et Br.) Phill. zu heißen. Mollisiella kann nicht als Subgenus von Pseudohelotium betrachtet werden, da sie eine eigene Gattung darstellt. Unguiculariopsis Rehm ist identisch mit Mollisiella Phill. Peziza Myriangii Ces. ist eine alte Mollisiella ilicincola. Encoeliella australiensis v. Höhn. nov. spec. wird beschrieben.

Nr. 529. Peziza apicalis B. et Br. stellt eine neue Helotiaceen-Gattung dar, die Helotiopsis genannt wird. Pezizella anonyma Rehm gehört auch zu Helotiopsis.

Nr. 530. Sarcoscypha pusio B. et C. ist eine typische Sarcoscypha, die mit Sarcoscypha javensis v. H. zusammenfällt und mit der Gattung Stamnaria gar nichts zu tun hat.

Nr. 531. Peziza retiderma Ck. — der Typus der Gattung Aleurina — scheint eine Plicaria im Sinne Rehms zu sein. Zur endgültigen Feststellung müssen aber noch frische Exemplare untersucht werden.

Nr. 532. Übersicht der Capnodiaceengattungen:

A. Hyphen nur subkutikulär, membranartig verbunden Kusanobotrys P. H.).

B. Hyphen frei, oberflächlich:

1. Sporen mauerförmig (Capnodium Mont., Capnodaria Sacc.);
2. Sporen phragmospor (Capnodaria Sacc., Limacinia Neg., Perisporina P. H., Perisporiopsis P. H., Scorias Fr.);
3. Sporen zweizellig (Alina Rac., Balladyna Rac., Dimerosporina v. H., Henningsiomyces Sacc.);
4. Sporen einzellig (Capnodiella Sacc.).

Nr. 533. Übersicht der Dothideaceengattungen mit oberflächlichem Ascusstroma:

A. Ascusstromata zu mehreren einem gemeinsamen, subkutikulären Hypostroma aufsitzend (Dothidasteromella v. H., Dothidasteroma v. H.).

B. Ascusstromata ohne gemeinsames, subkutikuläres Hypostroma:

1. Ascusstroma ohne sterilen Mittelteil (Rhagadolobium P. H., Lauterbachiella P. H., Discodothis v. H., Coscinopeltis Speg., Hysterostomella Speg., Polystomella Speg., Licopolia Sacc. et Syd.);
2. Ascusstroma mit sterilem Mittelteil (Cocconia Sacc., Polycyclus v. H., Uleopeltis P. H., Dielsiella P. H., Cycloschizon P. H., Parmularia Lév., Parmulariella P. H.).

Nr. 534. Von Conturea Castagnei Desm., die eine gute Formgattung darstellt, wird eine neue Beschreibung gegeben.

Nr. 535. Hypocenia gehört nach dem Originalexemplar von Hypocenia obtusa B. et C. in die Gattung Plenodomus Preuss., die schon früher aufgestellt wurde. Plenodomus ist kein Pyknidenpilz, sondern besteht aus konidienführenden Hohlräumen in Stromaten und gehört daher nicht zu den Sphaerioideen, sondern in eine Gruppe stromatischer Nebenfruchtformen, zu denen auch Cyclodomus v. H., Phaeodomus v. H., Lasmenia Speg. und viele andere Formen gehören.

Nr. 536. Ceuthospora eximia v. H. ist eine ganz typische Torsellia. Ceuthospora phacidioides, die als Nectrioidee betrachtet werden kann, die sich den Melanconieen nähert, hat aber mit Torsellia nichts zu tun.

Nr. 537. Piggotia asteroidea B. et Br. — der Typus der Gattung Piggotia B. et Br. — ist zweifelsohne eine Nebenfruchtform von Dothidella Ulmi (Duv.). Piggotia muß zu den braunsporigen Leptostromaceen gerechnet werden. Bei einer künftigen Einteilung der letzteren müssen die eingewachsenen scharf von den ganz oberflächlichen getrennt werden. Piggotia Fraxini B. et C. und P. Negundinis E. et D. haben mit Piggotia nichts zu tun und könnten als Dothichiza Lib. betrachtet werden.

Nr. 538. Cystotricha striola B. et Br. ist das Pyknidenstadium von Durella compressa P., welcher Pilz daher Cystotricha compressa (P.) v. H. zu heißen hat und zu den Nectroideae-Patellinae gehört. Cystotricha stenospora gehört nicht in diese Gattung, sondern zu Siropatella, die nicht zu den Excipuleen, sondern auch zu den Nectroideae-Patellinae zu stellen ist.

Nr. 539. Die Gattung Pirostoma Fr. muß ganz gestrichen werden.

Nr. 540. Lasmenia Balansae Speg. — der Typus der Gattung Lasmenia Speg. — ist ein blattbewohnendes Melanconium. Lasmenia subcoccodes Speg. ist kein Melanconium. Spegazzini hat also verschieden gebaute Nebenfruchtformen von Dothideaceen in seine Gattung Lasmenia eingereiht.

Soll die Gattung Lasmenia aufrecht erhalten werden, so muß man darunter eingewachsene Nebenfruchtformen mit einzelligen, gefärbten Sporen verstehen, die zu Dothideaceen gehören und bald pyknidenartig, bald melankonienartig gebaut auftreten.

Nr. 541. Labrella Capsici Fr. ist eine stromatische Nebenfruchtform ohne Gehäuse.

Nr. 542. Melophia ophiospora (Lév.) Sacc. — der Typus der Gattung Melophia Sacc. — ist wie Ascochytopsis Vignae P. Henn. eine Oncospora und hat mit den Leptostromaceen nichts zu tun, sondern könnte als Excipulee aufgefaßt werden. Melophia hat mit Melasmia keine Formverwandtschaft.

Melophia Woodsiana Sacc. et Berl. scheint ein Pyrenotrichum zu sein. Die elf von Spegazzini und Cooke beschriebenen M.-Arten sind

gewiß nur die konidienführenden Lokuli von Phyllachora-Arten. Verf. stellt die Phyllachora-Lokuli mit fädigen Sporen als Nebenfruchtformen in eine eigene Formgattung und nennt sie Linochora.

Melophia costaricensis Speg. gehört wahrscheinlich zu Phyllachora aspideoides Sacc. et Berl. Melophia glandicola Vestergr. scheint eine neue Gattung darzustellen.

Nr. 543. Melophia phyllachoroidea Cook. ist keine Melophia, sondern eine überreife Phyllachora, deren Nebenfruchtformen zu Linochora gestellt werden und Linochora Leptospermi (Ck.) v. H. genannt werden muß.

Nr. 544. Oncospora bullata Kelchbr. et Ck. ist eine Nebenfruchtform einer Dothideacee und gehört zu den stromatischen Fruchtformen und nicht zu den einfachen. Discella Capparidis Pat. et Har. und Cryptosporium circinans Wehr. et Curr. scheinen Oncospora-Arten darzustellen.

Nr. 545. Oncospora viridans Kalchbr. et Cooke — von Saccardo zu Ephelis Fr. gestellt — ist so nahe mit O. bullata verwandt, so daß sicher beide Pilze in dieselbe Gattung gehören. Verf. hält die beiden Pilze für stromatische Nebenfruchtformen, die sich den Excipuleen und Nectroideen-Patillineen nähern. Über die definitive Stellung läßt sich aber noch nichts sagen.

Nr. 546. Protostegia Magnolia Ck. kann als eingewachsene Excipulee betrachtet werden, bildet aber einen deutlichen Übergang zu Colletotrichum und Colletotrichopsis.

Nr. 547. Sporonema Desm. stellt eine Gattung dar, die offenbar einen Übergang von den Sphaerioideen zu den Melanconieen bildet. Gloeosporium Morianum Sacc. und Phyllosticta Medicaginis Fuck. sind mit Sporonema phacidioides Desm. (Typus der Gattung) identisch. Gloeosporium Moxt. et Desm. ist eine Mischgattung. Als Typus der Gattung Gloeosporium Sacc. muß Gl. Robergei Desm. gelten, welcher Pilz nicht dem entspricht, was man heute allgemein unter Gloeosporium versteht. Septoria Medicaginis Rob. ist eine Stagonospora.

Sporonema hyemalis Desm. gehört zu Schizothyrella. Sporonema glandicola Desm. dürfte eine Kümmerform sein, die vorläufig zu Dothiopsis zu stellen ist, aber vielleicht auch zu Dothichiza gestellt werden könnte. Sporonema ramealis Desm. ist eine Diaporthe-Nebenfruchtform und muß zu Pleodomus Preuß (= Phomopsis Sacc.) gestellt werden. Phoma sambucina Sacc. fällt mit Sporonema ramealis zusammen. Sporonema strobilina Desm. ist ein typisches Plenodomus, das zu Diaporthe occulta (Fck.) N. gehören dürfte.

Soll die Gattung Sporonema Desm. aufrecht erhalten werden, so muß man sie auf Sporonema phacidioides Desm. begründen, da die andern vier ebenfalls von Desmazière aufgestellten Sporonema-Arten in andere Gattungen gehören.

Nr. 548. Eriospora leucostoma Beck. et Br. gehört zu den Nectrioideen (Zythieen).

Nr. 549. Hymenula fumosellina Starb. stellt eine neue Gattung dar, die Siroscyphella (Nectrioideae-Patellinae) genannt wird.

Nr. 550. Pyrenotrichum Splitgerberi Mont. ist eine Nectrioideae-Patellinae, die am meisten mit Trichosperma Speg. und Kmetia Bres. et Sacc. verwandt zu sein scheint. Trichosperma cyphelloidea und Tr. aeruginosa müssen zu Pyrenotrichum gestellt werden.

Nr. 551. Catinula aurea Lév. (Gattungstypus) ist eine Nectrioidee-Patellinee und ist möglicherweise von Patellina Speg. generisch nicht verschieden.

Nr. 552. Catinula leucophthalma Lév. ist eine Bloxamia, die wahrscheinlich nur eine Form von Bloxamia truncata B. et Br. sein dürfte. Catinula turgida (Fr.) Desm. ist eine Dothichiza. Da Trullula nitidula Sacc. von Bloxamia truncata nicht verschieden sein dürfte, so fällt Thecostroma auch mit Bloxamia zusammen.

Nr. 553. Eine neue Sirozythia-Art, Sir. olivacea, wird beschrieben (auf Berberis-Zweigen).

Nr. 554. Levieuxia natalensis Fr. ist das sterile Stroma irgend einer Sphaeriacee.

Nr. 555. Pleococcum muß, da der Gattungstypus Pleococcum Robergei Desm. ein noch ganz unentwickelter Pilz ist, vorläufig gestrichen werden.

Nr. 556. Polynema ornata ist eine typische Excipulee. Piptostomum wird gestrichen werden müssen.

Nr. 557. Verf. nimmt aus 7 Gründen an, daß Sacidium Chenopodii Nees. — der Typus der Gattung Sacidium — das abgeworfene Sporangium eines Pilobolus ist. Der Pilz ist seit seiner Aufstellung nicht mehr gefunden worden. Spegazzini hat auch eine Anzahl Sacidium-Arten als Pilobolus-Sporangien erklärt.

Sacidium brasilense Speg. ist ebenfalls ein Pilobolus-Sporangium. Sacidium Desmazièrii Mont. ist eine unreife Sphaerella. Sacidium versicolor Desm. ist ein Microthyrium und mit M. Rubi Niesol. identisch. Sacidium Vitis ist ein junger Entwicklungszustand eines Askomyzeten. S. microsporum Fr. könnte ein kleinsporiges Pilobolus-Sporangium sein. S. umbilicatum Fr. ist nicht beschrieben wordeu. S. pini (Cd.) Fr. ist Rhizosphaera Pini. S. Duriae ist eine unreife Sphaeriacee. S. Sambuci Mont. ist ein eingewachsenes Stroma, das am besten zu Oncospora paßt. S. Natricis Mont. ist eine Phoma mit einem Pleodomus-artigen Nukleus und wahrscheinlich die Nebenfruchtform einer Diaporthe. S. Mauritiae Mont. ist eine überreife Dothideacee, die genügend gut zu Phaeochora v. H. paßt. S. Mori Mont. ist ein typisches Plenodomus. S. junceum Mont. ist eine ganz typische Phlyctaena.

Nr. 558. Melanconium Eucalypti Mass. et Rode ist mit Harknessia uromycoides Speg. identisch.

Nr. 559 und 560. Cryptosporium Arundinis Dur. et Mont. und Cr. Ammophilae sind zu Melanconium zu stellen.

Nr. 561. Die Gattung Monochaetia ist von Hyaloceras nicht verschieden, welche Gattung eine typische Melanconiee darstellt. Toxosporium Vuill. ist von Scolecosporium formgenerisch nicht verschieden.

Nr. 562. Cheiromyces stellatus Berk. et Curt. gehört zu den staurosporen, dematieen Tubercularieen. Cheiromyces speiroides stellt eine neue Gattung dar, die Cheiromycella v. H. genannt wird. Cheiromyces Beaumontii Berk. stellt eine neue Melanconieen-Gattung dar.

Nr. 563. Cladobotryum (?) gelatinosum Fuck. ist eine Tubercularieae, die eine Mittelstellung zwischen Dendrodochium und Coccospora einnimmt. Dendrodochium gigasporum Brls. ist eine etwas üppigere Form desselben Pilzes.

Nr. 564. Die Gattungen Haplographium und Cephalotrichum fallen zusammen.

Nr. 565. Bolacotrichia grisea Berk. et Br. ist völlig zu streichen.

Nr. 566. Drepanospora ist ein Helicosporium mit nur halbkreisförmig gebogenen Sporen.

Nr. 567. Verf. hält es aus einer Anzahl von Gründen für möglich, daß die Gattungen Acanthothecium und Ypsilonia zusammenfallen.

Nr. 568. Die Gattungen Pithomyces B. et Br. und Neomichelia Sacc. et Penz. sind identisch.

Nr. 569. Sclerographium Berk. ist eine gute Formgattung, die sehr nahe mit Negeriella P. H. verwandt ist.

Nr. 570. Die Gattung Endodesmia dürfte mit Leptotricha zusammenfallen.

Nr. 571. Rhopalidium Brassicae Mont. et Fr. ist identisch mit Alternaria Brassicae var. macrospora Sacc.

Nr. 572. Die Gattung Sporoderma Mont. fällt mit Trichoderma zusammen.

Nr. 573. Verf. erscheint es zweifelhaft, ob der Gattungsname Coniothecium Corda eine Berechtigung hat, da Corda Formen dazu stellte, die dem Gattungstypus nicht entsprechen. Sclerococcum kann für die kompakten flechtenbewohnenden Formen vom Charakter der Gattung Coniothecium sens. Sacc. aufrecht erhalten bleiben. J. Weese, Wien.

Wolf, Fred. A., A disease of the cultivated Fig, Ficus Carica L. Annal. Mycologici, 1911, Bd. 9, S. 622—624.

Verf. berichtet über eine an einer Feigenvarietät durch Macrophoma Fici Alm. et Cam., welcher Pilz bisher nur aus Afrika bekannt war, verursachte Erkrankung. Die Infektion der Früchte durch den Pilz erfolgte bei

Beginn der Reife und hat eine Fäulnis zur Folge, die schnell weiter greift und das Abfallen der erkrankten Früchte nach sich zieht. Das Myzelium des krankheitserregenden Pilzes wurde auch in den Zweigen und in den Spitzen der größeren Äste gefunden und konnte von hier aus gesunde Früchte infizieren. Für die Überwinterung des Pilzes kommen nur die Zweige in Betracht, da die abgefallenen Früchte bald völlig verfaulen. J. Weese, Wien.

Appel, O. und Riehm, E., Versuche über die Keimfähigkeit verfütterter Steinbrandsporen. Mitteil. a. d. Kais. Biolog. Anstalt f. Land- und Forstwirtsch., 1911, Heft 11, S. 12.

Nach den Untersuchungen der Verff. sind Steinbrandsporen (Tilletia Caries), nachdem sie den Darm von jungen Rindern, Ziegen oder Schafen durchwandert haben, nicht mehr keimfähig. Auf einem Feld, das eigens mit dem Mist von mit Steinbrandsporen gefütterten Tieren gedüngt und auf dem Weizen angebaut wurde, konnten die Steinbrandsporen keine Infektion mehr herbeiführen. J. Weese, Wien.

Némec, B., Über eine neue in den Wurzeln der Zuckerrübe parasitierende Chytridiazee. Österreich-Ungar. Zeitschrift f. Zuckerindustrie u. Landwirtsch., 40. Jahrg., 5. Heft, S. 680—682, 4 Textfig.

Verf. berichtet über eine neue von ihm in den Wurzeln der Zuckerrübe aufgefundene Chytridiazee, die Verf. anfangs für einen harmlosen Parasiten hielt, die aber nach späteren Erfahrungen schädigend auftreten kann. Als wirklich schädlich auftretender Parasit aus der Gruppe der Chytridiazeen ist bisher nur eine Art u. zw. Urophlyctis Leproides bekannt. Da dieser Pilz aber thermophil ist, so kommt er für unsere Gegenden gar nicht in Betracht.

An den befallenen Pflanzen ist die vom Verf. entdeckte neue Chytridiazee, die er als Sorolpidium Betae nov. gen. et nov. spec. beschreibt, äußerlich kaum zu erkennen, da sie weder Gewebewucherungen, noch eine übermäßige Vergrößerung der Zellen herbeiführt. Das einzige Kennzeichen einer starken Infektion ist eine unregelmäßige Krümmung der dünnen Nährwurzeln, die manchmal mit einer schwachen Verdickung und trüb gelblicher Färbung der infizierten Stellen verbunden ist.

Der Pilz kann auch jüngere Teile befallen und auf diese Weise die normale Streckung dieser Wurzelteile und die Ausbildung der Wurzelhaare hemmen. Eine Folge davon ist auch das Absterben der Epidermis und teilweise auch der Wurzelrinde, weshalb der Pilz nicht mehr als harmloser Parasit betrachtet werden kann. Länger andauernde Nässe fördert die Vermehrung dieses Zuckerrübenschädlings. J. Weese, Wien.

Hegyi, D., Le pied noir des betteraves et les mesures de protection à prendre. Bullet. Soc. Mycolog. France, Bd. 27, 1911, S. 153—159.

Verf. macht für die Wurzelbranderkrankung von Zuckerrüben Phoma Tabifica, Pythium de Baryanum und verschiedene Bakterien, haupt-

sächlich Bacillus mycoides verantwortlich, weil er beobachtete, daß sonst gesunde Rübensamen, die mit diesen Parasiten infiziert wurden, wurzelbrandkranke Pflanzen entwickelten. Die jungen Pflanzen werden entweder durch den Samen selbst oder durch die in der Erde enthaltenen Krankheitserreger angesteckt, so daß also die Verwendung von anscheinend gesundem Samen noch keine Gewähr für die Entwicklung von wirklich gesunden Pflanzen bietet.

Verf. gelang es festzustellen, daß der Wassergehalt der Samen von großer Bedeutung für den Erhalt von gegen die Infektion widerstandsfähigen Pflanzen ist. Trockene und daher schneller keimende Samen lassen kräftigere und gegen die Krankheitskeime widerstandsfähigere Pflanzen entstehen als wasserhaltige. Verf. empfiehlt daher vor der Aussaat der Zuckerübensamen eine Trocknung bei ungefähr 55 ° C. J. Weese, Wien.

Vuillemin P., Différence fondamentale entre le genre Monilia et les genres Scopulariopsis, Acmosporium et Catenularia. Bullet. Société mycol. France 1911, Bd. 28, S. 137—152, Fig. 1.

Der Typus der Gattung Monilia Gmelin (1791) ist Monilia aurea Gmel., eine typische Art stellt Monilia fructigena Pers. dar. Für genannte Gattung sind die „Blastosporen“ charakteristisch, die von Konidien genau unterschieden werden müssen. Die „Blastosporen“ sind Elemente, die bezüglich des Myzeliums nur unvollkommen individualisiert sind. Die Monilia-Arten, die wirkliche Konidien haben, sind von der Gattung Monilia zu trennen. Die meisten von Persoon aufgestellten Monilia-Arten gehören zu Aspergillus.

Monilia Koningii Oud. (1902) ist der Typus der Gattung Scopulariopsis und hat Scopulariopsis Koningii zu heißen. In letztgenannte Gattung gehören auch Monilia fimicola Cost. et Matr., M. Acremonium Delacr., M. candida Guéguen (non Bonarden), M. Acremonium Oud. et Kon. (non Delacr.), M. Arnoldi Mang. et Pat.

Scopulariopsis simplex ist mit Psilonia simplex Cost., Penicillium simplex P. Lindner und Catenularia fuliginea Saïto identisch.

Die für Scopulariopsis Blochii von Matruchot eigens geschaffene Gattung Mastigocladium ist ganz unnötig, da genannter Pilz ganz die Eigenschaften von Scopulariopsis zeigt und möglicherweise eher eine Form von Melanospora darstellt als eine Hypocreazee.

Melanospora acremonioides (Harr) Vuill. hat Mikrokonidien, die in ihrer Anordnung mit denen der Gattung Acmosporium übereinstimmen, welche Gattung Scopulariopis sehr nahe steht und zu den Penicillien gehört.

Beschränkt man die Monilia-Arten auf diejenige mit „Blastosporen“ so zerfällt die Gattung Monilia in drei Sektionen, von denen Verf. eine Übersicht gibt. J. Weese, Wien.

Buchdruckerei E. Buchbinder (H. Duske) Neuruppin.